

TESIS DOCTORAL

REPERCUSIONES CLÍNICAS Y
FISICOQUÍMICAS DEL TIEMPO DE LIGADURA
DEL
CORDÓN UMBILICAL EN RECIÉN NACIDOS A
TÉRMINO.

"PHYSIOLOGICAL AND CLINICAL REPERCUSIONS
OF THE TIMING OF THE UMBILICAL CORD
CLAMPING IN FULL TERM NEONATES"

Autora: Catalina de Paco Matallana

Granada, Mayo de 2.006

ÍNDICE

▪ AGRADDECIMIENTOS	13
▪ CAPÍTULO I	17
<u>RESUMEN / ABSTRACT</u>	
▪ CAPÍTULO II	21
<u>INTRODUCCIÓN</u>	
I. PINZAMIENTO DEL CORDÓN UMBILICAL	22
1. <u>Conceptos de ligadura precoz del cordón umbilical</u>	23
2. <u>Conceptos de ligadura tardía del cordón umbilical</u>	23
3. <u>Conceptos fisiológicos</u>	25
3.1. Transfusión placentaria	
3.1.1. Volumen sanguíneo contenido en la placenta	
3.1.2. Factores que intervienen en el pasaje de sangre de la placenta hacia el neonato	
3.1.2.1. Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el pinzamiento del cordón umbilical	
3.1.2.2. Nivel hidrostático existente entre la altura del neonato con relación a la madre	
3.1.2.3. Contractilidad uterina espontánea	
3.1.2.4. Expresión manual del cordón umbilical	
3.1.2.5. Expresión manual del cuerpo uterino	
3.1.2.6. Medicación materna con metilergometrina	
3.1.2.7. La influencia ejercida por la instauración de la respiración	
3.1.3. Método del incremento del peso del neonato	
3.2. <u>Pinzamiento del cordón umbilical y adaptación neonatal</u>	
3.2.1. Modificaciones cardiopulmonares	

3.2.1.1. Presión arterial	
3.2.1.2. Presión en la arteria pulmonar	
3.2.1.3. Presión venosa central y portal	
3.2.1.4. Presión en las cavidades auriculares	
3.2.1.5. Tiempo de intervalo sistólico derecho e izquierdo	
3.2.1.6. Diámetro cardiaco	
3.2.2. Modificaciones a nivel respiratorio	
3.2.2.1. Frecuencia respiratoria	
3.2.2.2. Pruebas de funcionalidad pulmonar	
3.2.3. Modificaciones a nivel renal	
3.2.4. Modificaciones en el flujo cerebral	
4. <u>Ligadura precoz del cordón umbilical</u>	30
5. <u>Ligadura tardía del cordón umbilical</u>	32
5.1. <u>Efectos beneficiosos de la ligadura tardía</u>	
5.1.1. Beneficios hematológicos	
5.1.1.1. Volemia, volumen de eritrocitos y volumen plasmático	
5.1.1.2. Hematocrito, hemoglobina, número de eritrocitos	
5.1.1.3. Reserva de hierro	
5.1.1.4. Necesidad de transfusión sanguínea y de albúmina	
5.1.2. Beneficios cardiopulmonares	
5.1.3. Otros beneficios potenciales	
5.2. <u>Efectos “adversos” relacionados con la ligadura tardía del cordón umbilical</u>	
5.2.1. HIPERVISCOSIDAD	
5.2.1.1. La sangre. Un fluido viscoelástico	
5.2.1.2. Viscosidad y la fracción proteica	
5.2.1.3. Papel del fibrinógeno	
5.2.1.4. Comportamiento hemorreológico	

de la fase globular sanguínea

- 5.2.1.5. Reología de la sangre
- 5.2.1.6. Repercusiones del hematocrito sobre la viscosidad sanguínea
- 5.2.1.7. Influencia de la temperatura sobre la viscosidad
- 5.2.1.8. Importancia de la serie blanca y plaquetaria en el síndrome de hiperviscosidad
- 5.2.1.9. El cordón umbilical como aproximación a la hemorreología fetal
- 5.2.1.10. Modificaciones hemorreológicas durante el parto
- 5.2.1.11. Adaptación fisiológica a la hiperviscosidad
- 5.2.2. POLICITEMIA
- 5.2.3. HIPERBILIRRUBINEMIA
 - 5.2.3.1. Toxicidad de la bilirrubina
 - 5.2.3.2. Encefalopatía bilirrubínica
 - 5.2.3.3. Ictericia fisiológica del recién nacido
- 5.2.4. TAQUIDNEA TRANSITORIA DEL RECIÉN NACIDO

II. MELATONINA

45

1. Metabolismo de la melatonina

- 1.1. Biosíntesis
- 1.2. Distribución
- 1.3. Eliminación

2. Regulación de la síntesis de melatonina

47

- 2.1. Regulación nerviosa y lumínica
- 2.2. Regulación hormonal
 - 2.2.1. Influencia del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal
 - 2.2.2. Influencia de las hormonas de estrés
- 2.3. Receptores de membrana implicados en la síntesis de melatonina
- 2.4. Mecanismos intracelulares de regulación

de la síntesis de melatonina

3. <u>Papel fisiológico de la melatonina</u>	
3.1. Órganos diana	
3.2. Receptores de melatonina	
3.3. Acciones de la melatonina	
3.4. Mecanismo de acción de la melatonina	
3.4.1. Inhibición de la síntesis de prostaglandinas	
3.4.2. Modificación de la síntesis de nucleótidos	
3.4.3. Alteración de los mecanismos contráctiles protein-dependientes	
4. <u>Producción extrapineal de melatonina</u>	51
5. <u>Melatonina en el ser humano</u>	51
5.1. Ritmo circadiano de la melatonina	
5.2. Ritmos menstruales y circanuales	
5.3. Edad, pubertad y niveles sanguíneos de melatonina	
6. <u>Actividad antioxidante de la melatonina</u>	54
7. <u>Protección del ADN por la melatonina</u>	55
8. <u>Control de los ritmos circadianos</u>	56
8.1. Organización del sistema circadiano por el núcleo supraquiasmático	
8.2. Función de la glándula pineal en el entrenamiento de los ritmos circadianos. Melatonina como “zeitgeber” interno	
8.2.1. Consecuencias de la pinealectomía sobre los ritmos circadianos	
8.2.2. Desincronización externa y administración de melatonina	
9. <u>Modelos teóricos para la acción de la melatonina</u>	59
10. <u>Administración de melatonina en el ser humano</u>	59
11. <u>La melatonina como “zeitgeber” interno</u>	60
12. <u>El sistema circadiano y fotoperiódico</u>	

13. <u>La glándula pineal y el fotoperiodo</u>	
14. <u>Melatonina y embarazo</u>	62
14.1. Melatonina durante el embarazo y parto	
14.1.1. Desarrollo del ritmo circadiano de melatonina en el embarazo	
14.2. Melatonina y recién nacido	
14.3. Melatonina y cordón umbilical	
14.4. Melatonina y placenta	
15. <u>Prematuridad y enfermedades del recién nacido que guardan relación con el estrés oxidativo</u>	
15.1. Prematuridad y estrés oxidativo	
15.2. Displasia broncopulmonar y estrés oxidativo	
15.3. Fibroplasia retrolental y estrés oxidativo	
15.4. Enterocolitis necrotizante y estrés oxidativo	
15.5. Hemorragia intraventricular y estrés oxidativo	
III. LÍPIDOS Y EMBARAZO	71
1. Lípidos y placenta	
2. Determinación de lípidos en el cordón umbilical	
. CAPÍTULO III	75
1. <u>HIPÓTESIS DE TRABAJO</u>	
2. <u>OBJETIVOS</u>	
3. <u>PERTINENCIA Y APORTACIÓN DEL ESTUDIO</u>	
. CAPÍTULO IV	79
<u>MATERIAL Y MÉTODOS</u>	
1. DISEÑO EXPERIMENTAL	
1.1. Grupos experimentales	
2. OBTENCIÓN DE DATOS MATERNOS Y FETO-NEONATALES	

- 2.1. Datos maternos
- 2.2. Datos feto-neonatales

3. MATERIAL: CARACTERÍSTICAS DEL MATERIAL

- 3.1. Edad materna
- 3.2. Hora del parto
- 3.3. Edad gestacional
- 3.4. Dilatación a la entrada a la sala de dilatación
- 3.5. Duración del periodo de expulsivo
- 3.6. Duración de la dilatación hasta el comienzo del expulsivo
- 3.7. Índice de velocidad de la dilatación
- 3.8. Paridad
- 3.9. Fumadora
- 3.10. Forma de inicio del parto
- 3.11. Empleo de epidural
- 3.12. Líquido amniótico
- 3.13. Registro cardiotocográfico
- 3.14. Circulares de cordón umbilical
- 3.15. Sexo del recién nacido

4. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

5. DEFINICIÓN DE VARIABLES

6. ANALÍTICA REALIZADA

- 6.1. Obtención de plasma sanguíneo
- 6.2. Medición de parámetros hematológicos
- 6.3. Medición de parámetros gasométricos
- 6.4. Medición de la viscosidad
 - 6.4.1. Método de medida de la viscosidad
 - 6.4.2. Conceptos básicos
 - 6.4.3. Parámetros de viscosidad
 - 6.4.4. Descripción del viscosímetro de Haake

. CAPÍTULO IV 101

RESULTADOS

. CAPÍTULO V 163

DISCUSIÓN

- CAPITULO VI	175
<u>CONCLUSIONES / CONCLUSIONS</u>	
. CAPÍTULO VII	179
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	

*A mis padres,
a mis dos hermanas,
a mis amigos,
los tres pilares de mi vida.*

*“Si vas a emprender el viaje hacia Itaca,
pide que tu camino sea largo,
rico en experiencias, en conocimiento.
A Lestrigones y a Cíclopes,
o al airado Poseidón nunca temas,
no hallarás tales seres en tu ruta
si alto es tu pensamiento y limpia
la emoción de tu espíritu y tu cuerpo.
A Lestrigones ni a Cíclopes,
ni al fiero Poseidón hallarás nunca,
si no los llevas dentro de tu alma,
si no es tu alma quien ante ti los pone.*

*Pide que tu camino sea largo.
Que numerosas sean las mañanas de verano
en que con placer, felizmente
arribes a bahías nunca vistas;
detente en los emporios de Fenicia
y adquiere hermosas mercancías,
madreperla y coral, y ámbar y ébano,
perfumes deliciosos y diversos,
cuanto puedas invierte en voluptuosos y delicados perfumes;
visita muchas ciudades de Egipto
y con avidez aprende de sus sabios”.*

ITACA

(Konstantino Kavafis, 1911)

AGRADECIMIENTOS

La memoria de esta Tesis Doctoral es el fruto de un arduo trabajo de investigación y de la dedicación de un equipo multidisciplinario, en el cual tuve la suerte de integrarme. Así pues, estas páginas no reflejan en absoluto el trabajo individual, sino el final de muchas horas de esfuerzo de todo un equipo.

Hace aproximadamente dos años y medio, el **Prof. D. Luis Navarrete López-Cózar**, Director y Catedrático del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Granada, junto con el **Prof. D. Jesús Florido Navío**, Catedrático de de la Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud, y el **Prof. D. Antonio Muñoz Hoyos**, Profesor titular de Pediatría, me propusieron la realización de esta tesis, después de una conversación sobre "*ligadura precoz y tardía del cordón umbilical*". Tras una breve y afable discusión sobre el tema y la puesta en común de muchas ideas y sugerencias, decidieron embarcarse conmigo en este proyecto, sin otro propósito que el de aportar nuevos conocimientos e intentar esclarecer el tipo de ligadura más conveniente para el neonato, analizando una serie de parámetros que se detallan en este estudio. Les agradezco profundamente la confianza que depositaron en mí.

Con el Prof. D. Luis Navarrete López-Cózar he compartido estrechamente los últimos meses de esta empresa. Me ha guiado, aconsejado, apoyado y motivado. Solamente hacía falta una llamada de teléfono o una conversación con él sobre cualquier tema, para sentir que todo era mucho más fácil de realizar de lo que yo pensaba en ese momento. Siempre intentaba transmitirme que todo es posible con esfuerzo, dedicación, interés y entusiasmo; lo recordaré siempre, en todos aquellos proyectos que tenga la oportunidad de emprender, tanto intelectuales como personales. Sin su último empuje hubiese sido imposible la terminación de esta tesis. Le doy las gracias por todo.

El Prof. D. Jesús Florido Navío ha sido y es una pieza fundamental de este trabajo, por su gran interés, aportación de ideas y dedicación. Él me dio la fuerza sobre todo al principio del proyecto, cuando todo era mucho más difícil de encauzar. Prácticamente me buscaba todos los días en el Hospital para ofrecerme su ayuda e intentar resolver pequeñas vicisitudes, dudas que aclarar o simplemente para charlar.

Al Prof. D. Antonio Muñoz Hoyos tuve la suerte de conocerlo gracias a este trabajo. Desde el principio me inspiró mucha confianza y tranquilidad para todo. Gracias a sus ideas sobre el proyecto, éste pudo completarse con análisis complementarios y de interés en los estudios actuales, es el caso de la melatonina y de la viscosidad.

Durante las guardias nos ocupábamos de la recogida de las muestras, y durante los "salientes" de su análisis. Para ello acudíamos al Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Granada. Allí conocimos al Dr. Julio Ochoa, cuarta pieza clave de este proyecto. Con él hemos compartido la parte más laboriosa de esta tesis, el análisis de las muestras. Pasábamos toda la mañana allí, lo peor es que estábamos "salientes de guardia", con lo que eso supone. No solamente le doy las gracias por esos momentos, también por la paciencia que ha demostrado tener a lo largo de todo este tiempo, sus enseñanzas en el laboratorio y su objetividad.

Cuando hablo de que "*nos ocupábamos en las guardias y en los salientes*" me refiero a mis dos compañeras de residencia y amigas: Sonia Prados y María

Garrido. A pesar de las duras mañanas compartidas, creo sinceramente que ha merecido la pena por los lazos de unión conseguidos, que perdurarán por muy lejos que estemos. Les deseo que pronto consigan acabar su proyecto y puedan sentir la satisfacción de estos momentos.

Le agradezco tanto al Jefe de Servicio, **Dr. D. Miguel Dolz Romero**, como al resto del staff del Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario San Cecilio de Granada, su flexibilidad y comprensión a lo largo de este tiempo. El apoyo y los conocimientos que me han transmitido han sido fundamentales durante estos años; imposible superar este periodo sin su ayuda. Además de haberme formado como ginecóloga en este Servicio, me ha servido de trampolín para posteriores metas y proyectos: *“yo y mis circunstancias”*, como diría José Ortega y Gasset.

Sin la ayuda desinteresada de todas las Matronas y Auxiliares de la Unidad de Dilatación y Partorio del Hospital Universitario San Cecilio de Granada, hubiese sido absolutamente imposible la recogida de muestras. No solamente les doy las gracias por esto, también por lo cuatro años que he pasado con ellas y ellos (aunque sean pocos), por los consejos, buenos momentos, conversaciones, bromas, risas, etc. Siempre las tendré presentes. Por supuesto, también me gustaría dar las gracias a todas aquellas parturientes que colaboraron con nosotros, con la única finalidad de intentar mejorar en nuestra práctica clínica diaria.

Gracias al Servicio de Bioquímica y Hematología del Hospital San Cecilio, por su ayuda en el análisis de las muestras.

Le agradezco a Huda Khaldy, del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada, aparte de su colaboración en este proyecto mediante el análisis de la melatonina, su disponibilidad para favorecer otras determinaciones, tal es el caso del análisis de la viscosidad.

Mis compañeros residentes “pequeños” y “mayores”, aparte de ayudarme en todo el trabajo de campo, a veces también duro para ellos por las horas extras que teníamos que dedicarle en algunas guardias, les quiero hacer saber la suerte y lo afortunada que me siento por haberles conocido. Echaré de menos su compañía, bromas. Quiero mencionar muy especialmente a Encarni, Aurora y Raquel, compañeras del mismo año de residencia y amigas.

A Marga, amiga a la que conocí durante los dos últimos años de residencia, le agradezco saber que podía contar con ella, en los buenos y malos momentos. Aunque no vivamos en la misma ciudad, espero que sigamos en contacto, no podemos perder lo vivido en estos años.

¿Qué haríamos los residentes sin Juan José Fernández Lara y Paquita García Bolívar, administrativos del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Granada? Su ayuda y apoyo son imposibles de describir en unas cuantas líneas, es mucho más que todo esto. Les doy las gracias y les deseo lo mejor, ellos lo saben.

Los meses de verano en Granada los he vivido de forma especial con María José Palomo, que me ofreció su casa y su tiempo en momentos difíciles de intranquilidad y nerviosismo. Hemos pasado muy buenos momentos, que quedarán siempre para nosotras.

El último tramo de mi estancia en Granada quiero agradecerlo a África Caño, con la que he vivido la mayor parte de los últimos meses de la realización de esta tesis. Me ha proporcionado tranquilidad, apoyo incondicional y fundamentalmente estabilidad, que tanto la he necesitado en esta última etapa.

A Francisca Molina, mi amiga, guía y compañera de viaje. Gracias por enseñarme el camino y abrirme las puertas.

A Belén, Inma, Paqui y Pili. A pesar de que cada una siguió su camino, seguimos siendo inseparables, buscando siempre los minutos que podemos para estar juntas, charlar, reír, en definitiva, disfrutar de nosotras y de nuestra compañía.

Así pues, he tenido tiempo para acabar un proyecto con el que me comprometí hace años pero, mucho más importante, para disfrutar de todas las experiencias vividas a lo largo de la realización de este trabajo.

Me gustaría acabar estas líneas igual que comencé, dedicando este trabajo a lo más importante de mi vida, mis padres, mis hermanas y todos mis amigos. En resumen, ellos son lo mejor y más importante que se puede poseer en esta vida.

“Hay amistades que se escurren de las manos como el agua clara, otras son como una rosa que uno se prende despreocupadamente en el ojal, pero las verdaderas amistades son como los chupapiedras de los niños andaluces, son lapas que se plantan silenciosamente en el corazón”

(Federico García Lorca, *Carta a un amigo*)

CAPÍTULO I

- RESUMEN / ABSTRACT

A pesar de que los mamíferos presentan una tendencia natural a no ligar el cordón umbilical durante el parto, y así lo hicieron los humanos durante la mayor parte de nuestra historia, dejando que de forma espontánea se interrumpa la circulación, en lo que se ha llamado ligadura tardía, esta práctica fue sustituida en la asistencia hospitalaria por la ligadura precoz, es decir, inmediatamente tras la expulsión fetal, sin que este cambio tenga una auténtica base científica. Los estudios sobre la importancia del momento del clampaje del cordón muestran resultados francamente contradictorios; hay conclusiones contundentes a favor y/o en contra de los dos tipos de ligadura estudiados, lo que evidencia no sólo la complejidad del problema sino que además, es posible que las diferentes investigaciones no sean suficientemente controladas ni estén correctamente diseñadas.

Por ello nos propusimos analizar 151 cordones umbilicales de neonatos provenientes de embarazos y partos normales a término, que tras el correspondiente consentimiento informado materno, fueron divididos en dos grupos de forma aleatoria : ligadura precoz 79 casos (antes de 20 segundos de la expulsión fetal) y tardía 72 casos (a los dos minutos). En ellos hicimos un estudio de los siguientes parámetros analíticos: hemograma y perfil bioquímico general (glucosa, urea, creatinina, bilirrubina proteínas totales y fibrinógeno) en vena umbilical, gasometría, viscosidad, melatonina y perfil lipídico en arteria y vena umbilicales. Así mismo estudiamos el tiempo y tipo de alumbramiento entre otros parámetros clínicos. Estos hallazgos fueron estudiados en una base de datos SPSS 12.0 y analizados estadísticamente utilizando fundamentalmente el test U de Mann-Whitney para muestras independientes o el de Wilcoxon para muestras apareadas, así como el de chi cuadrado para tablas de contingencia.

Nuestros resultados demuestran que no hay diferencias en el hemograma ni en el perfil bioquímico general en vena umbilical entre los casos de ligadura precoz y tardía del cordón. Tampoco hemos hallado diferencias en la viscosidad ni en la melatonina en arteria y vena umbilicales según la realización precoz o tardía de la ligadura. Sin embargo la PO_2 en arteria umbilical fue más elevada en los casos de ligadura tardía que necesitaron menos oxigenoterapia en la reanimación del recién nacido. En estos casos también los triglicéridos estuvieron más bajos en arteria y vena umbilical. Desde el punto de vista clínico en el periodo de alumbramiento no hubo diferencias en ambos grupos de ligadura umbilical.

Podemos concluir que no hemos encontrado ningún factor que haga aconsejable la ligadura precoz del cordón umbilical, y por tanto que haya justificado el abandono de la ligadura tardía en recién nacidos normales a término.

Although mammals tend not to clamp the umbilical cord during labour (and so it has been done traditionally during human history, letting circulation stop spontaneously, which has been called late cord clamping) this practise has been substituted by early cord clamping. It means immediately after fetal delivery, not having this mentioned change been based on research evidence. Research about the importance of when the cord should be clamped, it shows contradictory results indeed. There are strong conclusions pro and against both types, which proves that this research has not been properly controlled/designed.

This is why we have been studying 151 neonates from normal and term pregnancies and vaginal deliveries. We divided them into two randomized groups: 79 neonates in the early cord clamping group (20 seconds after fetal delivery) and 72 in the delayed cord clamping group (2 minutes after delivery). In both groups we studied blood parameters (red globules, hematocrit, hemoglobin, leucocytes, bilirubin, proteins, fibrinogen, creatinin, urea, glucose) in the umbilical vein. Acid-base balance, viscosity, melatonin and lipid profile in the artery and umbilical vein. Also, we studied the third stage of labour (time and type) among other clinic parameters (neonate weights, type of reanimation).

These findings were analyzed in a database SPSS12.0 using Mann-Witney, Wilcoxon and square test.

Our results show that there are no difference in the blood test, biochemistry, viscosity or melatonin either in the artery or umbilical vein between both groups. Nevertheless, pO_2 in the umbilical artery was higher in the delayed cord clamping than in the early cord clamping and these neonates needed less oxygen during reanimation. Also, in the delayed group, triglycerides were lower either in the artery and umbilical vein.

We are able to conclude that there are no reasons to recommend the early cord clamping instead of delayed cord clamping in term and normal pregnancies.

CAPÍTULO II

- INTRODUCCIÓN

I. PINZAMIENTO DEL CORDÓN UMBILICAL

En 1792, Erasmus Darwin, abuelo de Charles Darwin, afirmaba en su libro "Zoonomia": *"Otra cosa muy lesiva para el niño es pinzar y cortar el cordón umbilical muy pronto, el cual debe dejarse intacto no solamente hasta que el niño haya respirado repetidamente, sino hasta que las pulsaciones cesen. De manera contraria, el niño será más débil de lo que debería ser y se dejaría en la placenta una parte de sangre que debería estar en el niño; al mismo tiempo no se colapsaría naturalmente la placenta y no sería removida del útero con tanta seguridad y certeza"*.¹

Al final del embarazo, el cordón umbilical mide unos 50 cm de longitud y tiene alrededor de 2 cm de grosor. Su aspecto es blanquecino brillante y, a través del amnios que lo recubre, se pueden ver los vasos umbilicales. La disposición en espiral que adoptan las arterias alrededor de la vena confiere al cordón su aspecto helicoidal característico, que se adquiere como consecuencia de que: las dos arterias, a pesar de tener que recorrer la misma distancia tienen mucha mayor longitud.

Histológicamente, en el cordón umbilical se distinguen tres elementos: el amnios, el estroma y los vasos. El amnios se adhiere firmemente al estroma, que está constituido por una sustancia mucosa, la gelatina de Wharton, contenida en una red fibrilar formada por elementos elásticos, que protege a los vasos umbilicales. El tercer elemento lo forman los vasos umbilicales, una vena y dos arterias. La luz de la vena es mayor que la de las arterias, pero sus paredes son más finas, lo que le confiere una posibilidad de aplastamiento mayor.

La mayoría de las veces, el pinzamiento del cordón umbilical se realiza de forma mecánica y casi inmediata al nacimiento, sin detenerse a pensar en las posibles implicaciones que esta conducta puede tener para el recién nacido o la madre.

Tras décadas de discusión, prácticamente no hay acuerdo sobre el momento óptimo para el pinzamiento del cordón umbilical tras el nacimiento. De igual forma, no hay consenso ni evidencia científica suficiente acerca de los posibles efectos beneficiosos o perjudiciales para el recién nacido tras el pinzamiento temprano o tardío del cordón umbilical. El Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos, en conjunto con la Academia Americana de Pediatría, no mencionan este tema en sus Guías de Cuidado Perinatal;² la Sociedad de Obstetras y Ginecólogos de Canadá recomienda el pinzamiento inmediato del cordón umbilical para la obtención rutinaria de sangre del mismo, para el análisis de gases sanguíneos.³ Esta recomendación también es dada por el Colegio Real de Obstetras y Ginecólogos del Reino Unido.⁴

En una encuesta realizada a los miembros del Colegio Americano de Matronas,⁵ se comprobó que el 35% esperaban al cese del latido de la vena umbilical para ligar el cordón umbilical y el 26% lo hacían antes del minuto. Las razones argumentadas para la ligadura tardía eran que el neonato recibía más sangre procedente de la placenta y, por lo tanto, más oxígeno hasta la primera

respiración y mayores nutrientes; las razones para la ligadura precoz fueron que se prevenía del posible daño de la policitemia. El 78% de las encuestadas no aportaron ninguna referencia bibliográfica, en parte por la falta de recomendaciones basadas en la evidencia de las prácticas sobre el cordón umbilical.⁶

En la mayoría de los estudios publicados, cuando se habla de **ligadura tardía** (LT) en recién nacidos a término significa no pinzar el cordón hasta pasados 3 minutos tras el nacimiento⁷⁻¹¹ o el cese del latido de la vena umbilical.^{7,12-13} Para los pretérmino, el término "tardía" se refiere a no más de 30-45 segundos.¹⁴⁻¹⁸ En la literatura, se considera **ligadura precoz** (LP) cuando el pinzamiento del cordón umbilical se realiza antes del minuto,^{7,13} aunque en dos estudios se considera antes de 20 segundos tras el nacimiento.¹⁵⁻¹⁷

Abramson¹⁹ aconseja el pinzamiento inmediato del cordón umbilical al nacimiento.

Kaser²⁰ recomienda ligar el cordón después del cese de los latidos de las arterias umbilicales. Sin embargo, la mayoría de los autores están de acuerdo en que no existen evidencias suficientes para evaluar cualquiera de los criterios.¹⁹⁻²⁰

Los autores que propician el corte del cordón de forma inmediata, argumentan que el neonato debe tener el mismo volumen sanguíneo que el feto y, puesto que la placenta no es un órgano permanente, su contenido sanguíneo no sería necesario que pasara al neonato.

Los que propician la ligadura tardía, sostienen que el aporte suplementario de sangre tendría importancia inmediata para el llenado de la circulación pulmonar del neonato y, asimismo, contribuiría a aumentar las reservas de hierro.

1. CONCEPTOS DE LIGADURA PRECOZ DEL CORDÓN UMBILICAL .-

Entre la bibliografía revisada y en orden creciente al tiempo considerado para calificar la ligadura de cordón como precoz, tenemos los siguientes autores:

- Taylor²¹ y De Marsh²² y Papagno²³: de inmediato.
- Oh²⁴: en los primeros cinco segundos.
- Yao²⁵, Arcilla²⁶, Lind²⁷ y Linderkamp²⁸: a los diez segundos.
- Tiisala²⁹, Lanzkowsky³⁰ y Cruz³¹: a los quince segundos.
- Windle³², Young y Cottom³³: a los treinta segundos.
- Spears³⁴, Low³⁵ y Mercer³⁶: en el primer minuto.
- Cort y Pribylová³⁷: antes de la primera respiración.
- Frank y Gabriel³⁸: antes de las dos primeras respiraciones.

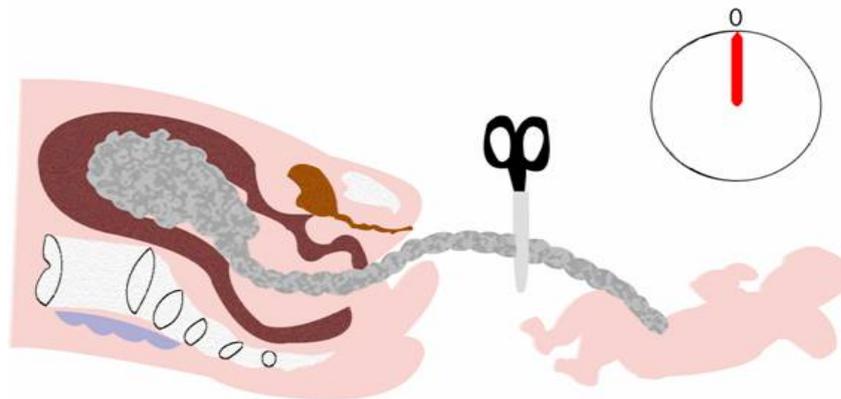
2. CONCEPTOS DE LIGADURA TARDÍA DEL CORDÓN UMBILICAL .-

Entre la bibliografía revisada y en orden creciente al tiempo considerado para calificar la ligadura de cordón con el calificativo de tardía, tenemos los siguientes autores:

- Taylor²¹ y Cruz³¹: entre el primer y el tercer minuto.
- Tiisala²⁹, Yao²⁵ y Linderkamp²⁸: al tercer minuto.

- Cort y Pribylová³⁷: después del tercer minuto.
- Oh²⁴: entre el tercer y el quinto minuto.
- Lind²⁷: al quinto minuto.
- Frank y Gabriel³⁸ y Moss³⁹: después de dos respiraciones.
- Arcilla²⁶, Papagno²³ y Mercer³⁶: después del cese de los latidos del cordón.
- Gunther⁴⁰, De Marsh²², Windle³²: después del alumbramiento.
- Lanzkowsky³⁰: después del alumbramiento y cuatro a cinco expresiones del cordón.

Esta diversidad de criterios dificulta el análisis y la comparación entre los diversos trabajos que existen sobre el tema, lo que se ve reflejado en la ausencia de una conducta normalizada entre los obstetras, como expone Pinotti⁴¹ en su tesis.



La lectura detenida de la bibliografía nos muestra que la elección del tipo de pinzamiento del cordón umbilical, ya sea de forma precoz o tardía, es un tema controvertido desde hace muchos años.⁴² En los años 60, se realizaron múltiples estudios en los cuales se examinó el efecto fisiológico de la ligadura tardía durante las primeras horas de vida del neonato. Según Usher y cols.,⁴³ el volumen estimado de la transfusión placentaria oscilaba entre el 20-60% del volumen de sangre existente en la placenta (54-160 ml), dependiendo del tipo de ligadura de cordón y la posición en la que el niño se coloca antes del pinzamiento de éste.⁴⁴ Linderkamp y cols.⁸ estimaron que la cantidad de sangre de la transfusión placentaria es de aproximadamente 35 ml/kg del peso del recién nacido, cuando se trata de niños a término mantenidos a nivel del introito vaginal y cuando la ligadura de cordón se ha realizado a los tres minutos tras el nacimiento.

En 1877 Hayem⁴⁵ observó que tras la realización del pinzamiento del cordón umbilical mediante la ligadura tardía, la concentración de hematíes en sangre de los recién nacidos era mayor que en aquellos a los que se le había realizado la ligadura precoz del cordón umbilical; se llegó a la conclusión de que esto se debía a la transfusión placentaria (al existir una diferencia de presión hidrostática entre el feto y la placenta que tiene lugar cuando se realiza la ligadura tardía), ante la cual el recién nacido responde con un aumento del hematocrito, la hemoglobina y la tensión arterial. Ahora bien, no se observaron diferencias significativas a nivel cardíaco. Sí existía un aumento del flujo renal asociado con el volumen sanguíneo

del recién nacido y esto puede ser un dato muy importante a la hora de tomar una decisión sobre el tipo de ligadura a realizar.⁴⁵⁻⁴⁶



3. CONCEPTOS FISIOLÓGICOS .-

3.1. Transfusión placentaria .-

3.1.1. Volumen sanguíneo contenido en la placenta .-

Fue Gunther⁴⁰ el que constató que la cantidad de sangre adicional recibida por el neonato, varía dependiendo del momento del pinzamiento del cordón de 0.8-4.7% de su peso corporal. Según Yao⁴⁷, este volumen puede representar el 55% de la volemia del neonato, mientras Cruz³¹ señala que en esta transfusión placentario-fetal, la mitad de la sangre placentaria pasaría al feto en un tiempo de 1-1.5 minutos, elevando su volumen hemático en un 25%. Finalmente, Usher⁴⁸ refiere que el volumen sanguíneo neonatal aumenta en un 61% cuando se liga el cordón a los cinco minutos de vida.

3.1.2. Factores que intervienen en el pasaje de sangre de la placenta hacia el neonato .-

Diversos investigadores estudiaron los factores involucrados en el paso de la sangre placentaria a la circulación del neonato en los primeros minutos que siguen al nacimiento. Este paso dependería de:

3.1.2.1. Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el pinzamiento del cordón umbilical:

En el primer minuto, el 50% de la transfusión placentaria pasa al neonato.⁴⁸ Al quinto minuto, el neonato ha recibido aproximadamente el 75% de la sangre placentaria.⁴⁷ A partir del quinto minuto la transfusión placentaria es de escasa magnitud.

3.1.2.2. Nivel hidrostático existente entre la altura del neonato con relación a la madre:

Duckman⁴⁹ comprobó que el neonato recibe mayor cantidad de sangre cuando es mantenido por debajo del nivel materno que por encima de este nivel. Hohmann⁵⁰ asegura que es imprescindible una diferencia significativa de la presión hidrostática existente entre la placenta y el feto para que se produzca la transfusión placentaria.

En su estudio, Kuncel⁵¹ comprueba una disminución de la transfusión placentaria si la ligadura del cordón se produce en un tiempo inferior a los 180 segundos del nacimiento y si el neonato es colocado 20 cm, o más, sobre la inserción placentaria.

3.1.2.3. La contractilidad uterina espontánea:

En cada contracción uterina del tercer periodo del parto se produce un paso de sangre hacia el neonato.^{40, 51-53}

3.1.2.4. La expresión manual del cordón umbilical:

Puede impulsar rápidamente al neonato una cantidad de sangre equivalente a la esperada en el caso de ligar el cordón cuando cesan los latidos del cordón umbilical.⁴¹

3.1.2.5. La expresión manual del cuerpo del útero:

Transfiere al neonato mayor cantidad de sangre que la expresión manual del cordón umbilical.⁴¹

3.1.2.6. La medicación materna con metilergometrina:

En los treinta segundos después del nacimiento se acelera el paso de sangre al neonato, lo cual se debe a una intensificación de la contractilidad uterina.⁴⁷

3.1.2.7. La influencia ejercida por el inicio de la respiración pulmonar:

Aún está en discusión. Redmond⁵⁴ constató que la transfusión placentaria era mayor cuando el cordón umbilical era pinzado después de iniciada la respiración. Sin embargo, Yao⁴⁷ no encontró ninguna influencia directa de la respiración del neonato sobre el volumen de la transfusión placentaria.

Como se ha visto, cada uno de los factores mencionados intervendría favoreciendo el pasaje de sangre de la placenta al neonato. Por ello, la cantidad de sangre recibida dependerá de la presencia de todos o algunos de estos factores.

3.1.3. Método del incremento del peso del neonato .-

El aumento de peso registrado en los primeros minutos, fue utilizado como indicador de la magnitud de la transfusión placentaria. Budin⁵⁵ estimó un aumento de peso de cien gramos en los tres primeros minutos de vida y lo atribuyó a dicha transfusión. Por otra parte Pinotti⁴¹, encontró diferencias estadísticamente significativas entre los pesos de neonatos antes y después de recibir la transfusión placentaria. Fonseca⁵³ y Gunther⁴⁰ registraron electrónicamente el aumento ponderal que tiene lugar a medida que ocurre el paso de sangre hacia el neonato.

La evaluación de los beneficios o perjuicios relacionados con el tipo de ligadura del cordón umbilical, requiere unos conocimientos básicos de la fisiología "transicional" del recién nacido a lo largo de los cambios que ha de realizar durante las primeras horas de vida.

En condiciones normales, una vez que nace el bebé y mientras las arterias umbilicales se constriñen espontáneamente, la placenta le transfiere sangre oxigenada permitiendo dos hechos importantes: mantener la **respiración placentaria** y aumentar el **volumen sanguíneo**. Con cada contracción uterina se observa a la vena umbilical tensa, lo que indica que está pasando sangre fetal de la placenta hacia el recién nacido. Por lo general, la vena umbilical se constriñe después de que el niño esté rosado y, habitualmente, este proceso tarda 3 minutos.⁵⁶

Demorar el pinzamiento del cordón umbilical, permite el tiempo suficiente para que ocurra la transfusión placentaria, que le aporta al recién nacido cerca de un 30% adicional de volumen sanguíneo y hasta un 60% más de eritrocitos⁵⁷, los cuales al destruirse por hemólisis añaden alrededor de 50 mg de hierro a las reservas del neonato, que tan importantes le son.⁵⁸

También se ha investigado la relación de la transfusión placentaria con la posición del recién nacido sobre el abdomen de la madre antes del pinzamiento (Método Leboyer).^{5,9-10,44} Se observó que estos recién nacidos tenían un volumen sanguíneo 32% más alto que aquellos a los cuales se les pinzó el cordón de forma inmediata tras el nacimiento, sin que ello supusiera un perjuicio para el neonato ni un detrimento en los cambios hemodinámicos, aunque se han descrito algunos casos con una sobrecarga circulatoria por una excesiva transfusión placentaria⁴² por aumento de las resistencias pulmonar y sistémica, sin afectación de las funciones del ventrículo derecho o izquierdo, lo cual podría explicarse por un incremento de la viscosidad sanguínea debida al aumento del hematocrito¹⁰ (este efecto se comentará ampliamente más adelante al hablar de la viscosidad sanguínea).

3.2. Pinzamiento del cordón umbilical y adaptación neonatal .-

Los cambios respiratorios y hemodinámicos que ocurren durante la transición de la vida intrauterina a la extrauterina, se explican inicialmente por una adecuada expansión pulmonar y el incremento subsiguiente del pH y la presión parcial de oxígeno; se produce vasodilatación de la arteria pulmonar, disminución de la resistencia vascular y aumento del flujo sanguíneo a este órgano. En consecuencia, para que haya una adecuada perfusión pulmonar deben insuflarse primero los alvéolos.⁵⁹⁻⁶⁰

En 1957, Jaykka⁶¹ demostró el concepto de *erección capilar* mediante el diseño de un experimento para evaluar el proceso de insuflación pulmonar. Utilizó pulmones de mortinatos humanos y de fetos de corderos. Evaluó el efecto de la insuflación sola, el efecto de infundir tinta a través de la arteria pulmonar para simular la perfusión pulmonar y una combinación de los dos métodos. Inicialmente insufló los pulmones sólo con aire y encontró que la expansión no ocurría de forma uniforme. Tuvo dificultades al inyectar la tinta para simular la circulación capilar cuando intentó hacerlo tras la insuflación. Posteriormente, en otros pulmones, inyectó tinta en la arteria pulmonar con una presión de 80 mmHg y encontró que el sistema capilar se tornaba rígido o erecto, formando un marco que soportaba la unidad respiratoria. Por último, inyectó tinta en la arteria pulmonar de otros pulmones bajo presión y posteriormente los insufló. Requirió menos presión para insuflar los pulmones cuando el sistema vascular ya estaba distendido con la tinta. Llegó a la conclusión de que este proceso de *erección capilar* es un paso esencial en la adaptación cardiopulmonar neonatal.

En 1959, Avery⁶² también observó que era más fácil insuflar los pulmones si eran perfundidos previamente. Estos estudios fundamentan el concepto de que el establecimiento de la respiración neonatal normal se basa en el flujo adecuado de sangre al lecho pulmonar.

En la vida intrauterina los pulmones reciben únicamente el 8% del gasto cardiaco, mientras que la placenta recibe el 40%. En el segundo periodo del trabajo de parto, las contracciones uterinas crean presiones mayores de 80 mmHg lo que permiten el paso adicional de sangre de la placenta al feto inmediatamente antes o durante el nacimiento, con una mejoría de la perfusión pulmonar y de otros órganos, induciendo la erección de los capilares pulmonares, incrementando el gasto cardiaco que va a los pulmones y facilitando la remoción del líquido pulmonar fetal y la entrada de aire a los alvéolos.^{5,59}

La circulación umbilical continúa aportando oxígeno, que a la vez expande el volumen sanguíneo y corrige el pH. El incremento de los niveles de oxígeno estimula el centro respiratorio en el cerebro y comienza la respiración continua. El aumento de la pO₂ conduce al cierre de las arterias umbilicales; posteriormente tiene lugar el éstasis en la vena umbilical y se desprende la placenta^{5, 59, 63}. Según este modelo, para que haya una adecuada ventilación pulmonar deben profundirse los pulmones de forma adecuada.

Si se realiza la ligadura precoz del cordón umbilical, el volumen de sangre existente en la placenta no pasa al recién nacido, por lo que el flujo sanguíneo necesario para la perfusión pulmonar es “extraído” de otros órganos, causando una potencial hipoperfusión de éstos.⁵

3.2.1. Modificaciones cardiopulmonares .-

Los estudios sugieren que, tanto los recién nacidos a término como los pretérmino, en el caso de la ligadura tardía del cordón umbilical tienen mejor vasodilatación pulmonar y sistémica, mayor flujo sanguíneo al cerebro e intestino.¹⁶ En los neonatos pretérmino, se ha documentado además un incremento en la presión arterial¹⁴ y mejor adaptación cardiopulmonar con menor necesidad de oxígeno y días de ventilación mecánica.⁵

Estudios piloto y experiencias en animales, mostraron la existencia de efectos cardiovasculares atribuibles al tipo de ligadura de cordón umbilical^{33,64-70} realizado. Basados en estas publicaciones, diversos autores se dedicaron al estudio en profundidad del tema. Los resultados más relevantes de estas investigaciones se exponen a continuación.

3.2.1.1. Presión arterial:

Los neonatos sometidos a LT tuvieron, en las primeras cuatro horas de vida, valores de presión arterial sistólica significativamente mayores que los del grupo de LP.^{51,71-73} Sin embargo, para Nelle⁷⁴ la presión arterial fue similar en ambos grupos y hubo en ellos un incremento de aproximadamente un 10% desde el día 1 hasta el día 5.

3.2.1.2. Presión en la arteria pulmonar:

La presión en la arteria pulmonar en los neonatos que recibieron la transfusión placentaria, representó el 90% de la presión aórtica en las primeras 9 horas de vida. Por otra parte, para aquellos que no recibieron la transfusión placentaria, el valor pulmonar fue sólo el 70% de la presión aórtica en la segunda hora y el 50% de ese valor en la cuarta hora.⁷⁵

Por otra parte, Nelle⁷⁴ sugiere que el método de Leboyer se asocia a un incremento transitorio de las resistencias pulmonares y sistémicas.

3.2.1.3. Presión venosa central y portal:

Arcilla²⁶ y Lind⁷⁵ no encontraron diferencias significativas entre los valores de la presión venosa portal de neonatos sometidos a la ligadura precoz y a la ligadura tardía.

3.2.1.4. Presión en las cavidades auriculares:

Las presiones en estas cavidades, durante la primera hora de vida, son significativamente mayores en los neonatos de ligadura tardía.²⁶

3.2.1.5. Tiempo de intervalo sistólico derecho e izquierdo:

Nelle estudió el tiempo de intervalo sistólico a través de la ecografía pulsometría-Doppler. Los tiempos de eyección ventricular izquierdo y derecho (LVET y RVET) no se afectaban cuando existía transfusión placentaria, lo que sugiere que la función ventricular era correcta tras un nacimiento por el método de Leboyer.⁷⁴

Los cocientes entre el periodo preeyectivo ventricular izquierdo y el tiempo de eyección ventricular izquierdo (LPEP/LVET) y el periodo preeyectivo ventricular derecho y el tiempo de eyección ventricular derecho (RPEP/RVET), fueron significativamente mayores en el grupo de Leboyer ($p < 0.05$), en comparación con el grupo de ligadura precoz, lo que apoya la existencia de mayores resistencias sistémicas y pulmonares.

RPEP disminuyó significativamente alrededor de un 17% en el grupo de ligadura tardía desde el primer día hasta el quinto ($p < 0.05$), pero no varió en el grupo de Leboyer. Por el contrario, en el grupo de Leboyer el cociente RPEP/RVET decreció significativamente entre estos días, pero no cambió en el grupo de ligadura tardía.

El cociente RTPV/RVET corregido (pico de velocidad derecho y tiempo de eyección del ventrículo derecho) está relacionado inversamente con la presión arterial pulmonar. Un valor normal para este cociente es 0.35 o mayor. Destaca que este cociente fue significativamente menor en el grupo de Leboyer en el día 1 en comparación con el grupo de ligadura precoz, pero no difirieron en el día 5.

Los resultados sugerían que el parto realizado por el método de Leboyer fue asociado a un aumento de las resistencias pulmonares y sistémicas, pero no se afectó la función ventricular derecha e izquierda.

Contrariamente, Yao⁷⁶ sugiere que la ligadura tardía tiene efectos desfavorables en el trabajo ventricular izquierdo de los neonatos.

3.2.1.6. Diámetro cardiaco:

Se encontró que la medida del diámetro transversal cardiaco evaluado radiológicamente, era significativamente mayor en los recién nacidos con ligadura tardía a los 15 minutos de vida.⁷¹ Idéntica comprobación fue hecha en la sexta hora⁷⁷ y a las 24 horas del nacimiento.²⁹

3.2.2. Modificaciones a nivel respiratorio .-

3.2.2.1. Frecuencia respiratoria:

Durante las tres primeras horas de vida, la frecuencia respiratoria es significativamente más elevada en los recién nacidos con ligadura tardía.^{73, 78}

3.2.2.2. Pruebas de funcionalidad pulmonar:

La capacidad residual funcional y la complianza, en neonatos en quienes se realizó la ligadura del cordón a los 5 segundos, fueron significativamente mayores que en aquellos ligados entre los 3 y 5 minutos del nacimiento. Estos estudios se efectuaron durante las 6 primeras horas de vida²⁴.

3.2.3. Modificaciones renales .-

Durante las primeras 12 horas de vida, el volumen urinario, los aclaramientos de inulina y de para-amino-pirúvico, así como el flujo sanguíneo renal, son significativamente mayores en los recién nacidos que tuvieron ligadura tardía.⁷⁹ Es posible que la función renal se efectúe en mejores condiciones en los casos de ligadura tardía.^{50-51, 79}

Cort y Pribylova³⁷ no encontraron diferencias significativas comparando el volumen urinario del primer día en los neonatos de ambos grupos.

3.2.4. Modificaciones en el flujo cerebral .-

Nelle mediante un estudio estadístico, concluye que la velocidad del flujo sanguíneo cerebral en la arteria carótida interna, arteria cerebral anterior y el tronco celiaco fue similar en los grupos de ligadura precoz y en los sometidos al método de Leboyer, sin producirse cambios durante los cinco primeros días que duró el estudio.⁸⁰

4. LIGADURA PRECOZ DEL CORDÓN UMBILICAL .-

Desde hace unos 200 años,¹ el pinzamiento precoz del cordón umbilical antes de que el recién nacido respire, ha sido una práctica muy discutida.

En los años 70, se realizaron estudios en primates,⁸¹⁻⁸² a los cuales se les realizaba la ligadura precoz, produciendo una asfixia neonatal. Dos estudios posteriores⁸³⁻⁸⁴ sobre la transfusión placentaria y el tipo de ligadura del cordón umbilical, también rechazaban la ligadura precoz.

Sin embargo, a principios de los años 80 y 90 esta práctica aumentó, sobre todo en los hospitales del hemisferio occidental,⁸⁴ por varias razones:

- Temor al desarrollo de policitemia, hiperviscosidad, hiperbilirrubinemia y taquipnea del recién nacido (todos ellos relacionados con la ligadura tardía del cordón umbilical y que más adelante comentaremos).

- El deseo de obtener sangre del cordón umbilical para la medición del pH, gases y otros parámetros.

- El manejo activo del alumbramiento y disminuir la hemorragia postparto.

El Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG) y la Sociedad de Obstetras y Ginecólogos de Canadá (SOGC), abogan por la ligadura precoz del cordón umbilical,⁸⁵⁻⁸⁶ a pesar de no existir suficiente evidencia científica a favor⁸¹ de esta práctica, basándose entre otras razones en la necesidad de obtener una muestra de sangre umbilical suficiente para la medición del pH y gases, que certifiquen el bienestar fetal.

De esta manera y como hemos comentado anteriormente, se priva al recién nacido del paso de sangre oxigenada de la placenta, la única fuente de oxígeno que tiene el niño hasta que sus pulmones comienzan a funcionar. Dicha sangre permanece en la placenta, siendo preciso que el neonato desvíe flujo sanguíneo de otros órganos hasta los pulmones.⁵⁶

Tras el pinzamiento precoz del cordón umbilical, el recién nacido a término normalmente tiene sangre suficiente para establecer la circulación pulmonar, pero puede darse el caso de encontrarnos con un neonato pálido, débil y lento en las respuestas. Se conoce que la ligadura del cordón umbilical antes de que se realice la primera respiración del neonato,⁸⁴ siempre lleva consigo algún grado de asfixia y pérdida de volumen sanguíneo que se estima puede oscilar entre el 25-40%.⁸⁷

De cualquier manera, no se han encontrado efectos perjudiciales directos relacionados con el pinzamiento temprano en recién nacidos a término ni en pretérmino, excepto un **incremento de la anemia** en la infancia, aunque debemos anotar que ninguno de los estudios buscó secuelas a largo plazo.⁵

Existen determinadas situaciones en las cuales podría estar indicado realizar la ligadura precoz del cordón umbilical, como por ejemplo el uso de anestesia general en la madre,⁸⁸ la isoimmunización Rh.⁵⁸ Tradicionalmente se realiza la ligadura precoz en un parto gemelar, para evitar la transfusión feto-fetal, en las madres portadoras de alguna enfermedad infecciosa (infectadas por el virus de inmunodeficiencia humana, hepatitis C y B, etc.), para evitar el contagio de los bebés, aunque no se han encontrado estudios al respecto, por lo que no podemos dar ninguna referencia. También en aquellos neonatos diagnosticados de crecimiento intrauterino retardado⁸⁹⁻⁹⁰ o aquellos cuyas madres presentan una diabetes gestacional. Georgieff y cols.,⁹¹ observaron hasta un 22% más de casos con policitemia en aquellos neonatos cuyas madres eran diabéticas, y hasta un 42% en aquellos otros en los que se había demostrado mediante ecografía que tenían un crecimiento intrauterino retardado. Como sabemos, cualquier circunstancia de hipoxia mantenida durante el embarazo (diabetes, CIR

asimétrico), puede llevar a la poliglobulia, siendo ésta la causa y no el tipo de ligadura.

No obstante, debemos afirmar que solamente existe un estudio realizado por Saigal y Usher⁹² en 1977, en el cual se relaciona el tipo de ligadura del cordón umbilical con la policitemia sintomática, pero dichos hallazgos no han sido refutados.

No existe consenso sobre los resultados a largo plazo de niños nacidos a término y con policitemia. Bada y cols.⁹³ en un estudio control aleatorio, no encontró diferencias en los resultados neurológicos a los 30 meses de vida, entre los niños control sin policitemia y aquellos que sí la tuvieron. En 1997, Liem y cols.⁹⁴ observaron que la hemodilución aplicada a los niños con policitemia, no implicaba una mejora en la oxigenación cerebral. Pero en este estudio, los grupos no son homogéneos en cuanto al tamaño y a la selección de la muestra.

En el año 2002, Rajnik y cols.⁹⁵ observaron que, a las 3 horas de la extracción del 25% del volumen sanguíneo de ratas, aparecían citokinas pro-inflamatorias en los pulmones e hígado. Grether y cols.⁹⁶ mostraron que podría existir una relación entre la presencia de estas citokinas y los niños que posteriormente tuvieron un daño cerebral.

5. LIGADURA TARDÍA DEL CORDÓN UMBILICAL .-

Filogénica y ontogénicamente, la ligadura tardía del cordón umbilical ha sido el procedimiento natural, siendo ésta una conducta que se observa tanto en el mundo animal, como en las culturas primitivas que aún subsisten⁹⁷.

Con los importantes avances en la Obstetricia y la Neonatología desarrollados en las últimas décadas, la práctica habitual del pinzamiento precoz del cordón umbilical se ha instaurado en la mayoría de los hospitales, sobre todo en los del mundo occidental, sin que existan estudios adecuados sobre sus potenciales efectos a corto y largo plazo.

La literatura médica contiene muchas referencias sobre los posibles efectos perjudiciales del pinzamiento tardío del cordón umbilical. Actualmente, está tan extendida la creencia de que este tipo de ligadura causa policitemia, que se acepta sin claras referencias bibliográficas ni evidencias científicas.⁹⁸⁻¹⁰²

5.1. Efectos beneficiosos de la ligadura tardía .-

Aunque la mayoría de los estudios clínicos controlados incluyen grupos pequeños de pacientes y requerirían ser confirmados, los resultados sugieren varios efectos beneficiosos importantes.

5.1.1. Beneficios hematológicos .-

Una moderada transfusión de aproximadamente 20-30 ml/kg proporciona 30-50 mg de hierro "extra", lo cual puede prevenir o retrasar la depleción de los depósitos de hierro en la infancia. Esto es muy importante en los países subdesarrollados, donde la anemia ferropénica es muy frecuente. Estudios realizados en Dinamarca¹⁰³ demostraron que los niveles de ferritina eran más elevados en un hospital donde se realizaba la LT, que en otros países de Europa, donde la ligadura del cordón umbilical se realizaba de forma precoz.

En otro estudio realizado en niños a término de Guatemala a los que se les practicó la ligadura tardía del cordón umbilical, se observó que los niveles de hematocrito eran más altos a los dos y tres meses de vida, junto con una tendencia a niveles superiores de ferritina.¹⁰⁴

En los recién nacidos pretérmino, se ha demostrado niveles más altos de hemoglobina, hematocrito y menor necesidad de transfusión sanguínea en las primeras seis semanas de vida.

Rabe y cols.¹⁵ realizaron un estudio aleatorizado en 40 neonatos pretérmino menores de 33 semanas de edad gestacional; en un grupo se pinzó el cordón de forma precoz (menos de 20 segundos) y en otro grupo se pinzó de forma tardía (a los 45 segundos). Al finalizar la sexta semana, 16 pacientes del grupo de precoz recibieron una transfusión sanguínea de glóbulos rojos, contra 9 del grupo de tardía ($p < 0.05$). En ningún paciente se encontraron signos de sobrecarga de volumen (hipertensión arterial, bradicardia persistente) o de viscosidad excesiva. La necesidad de fototerapia fue similar en ambos grupos. Tras este estudio, los autores concluyeron que retardar el pinzamiento del cordón umbilical por 45 segundos en los pretérmino menores de 33 semanas de gestación es no solamente posible, sino además seguro y beneficioso.

En otro estudio realizado en Australia en 1997 por McDonnell y cols.,¹⁸ 46 recién nacidos prematuros de 26 a 33 semanas de gestación fueron asignados de forma aleatoria al pinzamiento precoz o a los 30 segundos tras el nacimiento por vía vaginal o por cesárea. Se midió el hematocrito a la hora y cuatro horas de vida, observándose el nivel del hematocrito más alto en los niños con pinzamiento tardío, aunque estas diferencias no fueron significativas a la hora (55 ± 7.7 vs 52.9 ± 7) o a las cuatro horas de vida (55 ± 7 vs 52.5 ± 7). Según sus autores, estos resultados sugieren que el pinzamiento debe retardarse más de 30 segundos. Una conclusión muy importante de este estudio es que es posible pinzar el cordón umbilical de forma tardía en los prematuros que nacen por cesárea.

Más recientemente, Ibrahim y cols.¹⁴ en el año 2000, realizaron otro estudio en 32 neonatos pretérmino, cuyos resultados fueron menor número de transfusiones sanguíneas en la primeras cuatro semanas de vida, menores transfusiones de albúmina en la primeras 24 horas, presión arterial media más alta en las primeras cuatro horas de vida e incrementos significativos en el hematocrito, hemoglobina y recuentos de glóbulos rojos, en el grupo de los prematuros con pinzamiento tardío del cordón umbilical, comparados con los que se pinzaron de forma precoz.

A pesar de que estos estudios están realizados en muestras pequeñas, los hallazgos indican efectos beneficiosos a nivel hematológico. Estos resultados adquieren más importancia en los países en vías de desarrollo, tanto económica como clínicamente.^{16,102}

5.1.1.1. Volemia, volumen de eritrocitos y volumen plasmático:

La volemia de los neonatos con ligadura tardía es significativamente mayor que en los de ligadura precoz. Esta diferencia verificada ya desde los primeros minutos de vida, ha sido encontrada también al quinto día de vida.^{22-23, 27, 48, 50, 79, 105-106}

Por otra parte, Erkkola¹⁰⁷ observó similares efectos sobre la volemia, al realizar la ligadura tardía del cordón, tanto en un parto vaginal como en una cesárea.

La diferencia constatada en la volemia de ambos grupos, es consecuencia de un volumen de eritrocitos significativamente mayor, encontrado en los recién nacidos que recibieron la transfusión placentaria.^{27, 48, 79, 105}

En general, no se encontraron diferencias significativas entre los volúmenes plasmáticos de neonatos con y sin ligadura precoz.^{22, 79, 106} Sin embargo, McCue¹⁰⁵ encontró volúmenes plasmáticos mayores a los treinta minutos de vida en los casos en los que se practicó ligadura tardía. Usher⁴⁸ obtuvo resultados inversos efectuando un estudio similar, pero a las veinticuatro horas.

5.1.1.2. Hematocrito, hemoglobina, número de eritrocitos:

El hematocrito, desde los treinta minutos hasta el quinto día de vida, es significativamente mayor en los niños que reciben sangre de la reserva placentaria.^{22, 27, 48, 51, 71, 79, 105, 108-110}

El método de Leboyer requiere que el recién nacido sea depositado sobre el vientre materno y el cordón sea ligado cuando deja de latir. NELLE⁷⁴ encontró un aumento significativo del hematocrito, no sólo en el día 1 (0'61 +/- 0'06 vs. 0'53 +/- 0'07), sino también en el 5º día (0'57 +/- 0'02 vs. 0'50 +/- 0'07), cuando se utilizó este método en comparación con la ligadura precoz del cordón umbilical.

Así mismo, la cantidad de hemoglobina y el número de eritrocitos, desde el primero al quinto día de vida, son mayores en los casos de ligadura tardía.^{30, 32, 49, 51, 106, 110-112}

Ibrahim⁷² también halla incrementos estadísticamente significativos en los neonatos sometidos a ligadura tardía, cifrando éstos en un 21% para el hematocrito, un 23% para la hemoglobina y un 21% para el número de eritrocitos en comparación con el grupo de ligadura precoz.

Papagno²³ observó una policitemia transitoria con un pico máximo a las 12 horas, aunque los niveles retornaron a la normalidad entre las 2 y 36 horas tras el nacimiento y no apareció ninguna patología relacionada con ella.

McDonnell¹¹³ comparó estos parámetros en pretérminos nacidos vía vaginal o por cesárea y en este estudio apreció una tendencia al alza en los valores del hematocrito de los recién nacidos a los que se realizó una ligadura tardía pero sin significación estadística a la hora (55+/- 7.7 versus 52.9 +/- 7) ni a las 4 horas de vida (55+/- 7 vs 52.5 +/- 7). Esta tendencia fue mayor en los niños nacidos por cesárea y en aquellos de edad gestacional comprendida entre las 26-29 semanas. Concluyó que la LT era factible tanto en partos vaginales como en

nacimientos por cesárea, pero ésta no conlleva a predecir diferencias en el hematocrito de los recién nacidos.

5.1.1.3. Reserva de hierro:

Geethanath¹¹⁵ realizó un estudio en la India en 1997, con dos grupos comparables en cuanto a edad materna, paridad, peso, suplementos de hierro durante el embarazo, peso de los neonatos al nacer, tipo de parto y sexo; sólo diferían en el tipo de ligadura practicada, precoz o tardía. Mostró una reducción en la incidencia de anemia a los 3 meses de 48% y una mejora de las cifras de hemoglobina con el pinzamiento tardío.

5.1.1.4. Necesidades de transfusión sanguínea y de albúmina:

Ibrahim⁷² concluyó que, durante un período de estudio de 4 semanas, la LT del cordón umbilical reducía de manera significativa los requerimientos de transfusiones sanguíneas ($p < 0.001$) y también de transfusiones de albúmina durante las primeras 24 horas ($p < 0.03$).

Según Grajeda¹¹⁶, estos resultados sugieren que esperar hasta que el cordón umbilical pare de latir para realizar la ligadura, es una intervención de bajo coste factible que reduce la aparición de anemia en los neonatos de países en vías de desarrollo.

En los recién nacidos pretérmino, se ha demostrado niveles más altos de hemoglobina y hematocrito y necesidades menores de trasfusiones en las primeras seis semanas de vida (se comentará en otro apartado).

5.1.2. Beneficios cardiopulmonares .-

Los estudios sugieren que, tanto los recién nacidos a término como los pretérmino, tienen mejor vasodilatación pulmonar y sistémica, junto con un mayor flujo sanguíneo al cerebro e intestino.^{16, 116-117} En los recién nacidos pretérmino, se ha documentado un incremento en la presión arterial¹⁶ y mejor adaptación cardiopulmonar con menor necesidad de oxígeno y días de ventilación mecánica.⁵ En los neonatos a término, mejor llenado capilar,¹¹⁸ temperatura periférica más alta¹¹⁹ y mayor gasto urinario,¹²⁰ por la mayor perfusión atribuible al pinzamiento tardío del cordón umbilical.

5.1.3. Otros beneficios potenciales .-

El pinzamiento tardío del cordón umbilical representa un cambio en las rutinas habituales hospitalarias, que favorecería el contacto temprano entre la madre y su hijo. Se ha demostrado una asociación estadísticamente significativa entre el contacto temprano y la duración de la lactancia materna,¹²¹ la cual fue más prolongada en los recién nacidos a los que se les había ligado tardíamente el cordón umbilical.⁷

5.2. Efectos “adversos” relacionados con la ligadura tardía del cordón umbilical .-

5.2.1. HIPERVISCOSIDAD .-

Usualmente, aunque no siempre, el aumento de la viscosidad sanguínea acompaña a la policitemia, asociándose con un pobre resultado neurológico; sin embargo, los estudios más recientes no han podido documentar ningún patrón

de daño neurológico. Tanto las transfusiones sanguíneas como la transfusión placentaria fisiológica, incrementan la viscosidad sanguínea en los recién nacidos, lo que se acompaña de una disminución significativa de la resistencia vascular, que produce mayor vasodilatación pulmonar y sistémica, componentes esenciales de la adaptación neonatal a la vida extrauterina.^{5, 59}

A continuación, describimos los conceptos básicos de la viscosidad.

5.2.1.1. La sangre. Un fluido viscoelástico:

Los líquidos, al igual que los gases, muestran una resistencia al flujo que se conoce como "*viscosidad*". Esta propiedad que se opone al movimiento relativo de moléculas, puede considerarse para todos los efectos como "*rozamiento interno*".¹²²

En honor a su descubridor Poiseuille, la unidad de la viscosidad se llama "poise" y corresponde a una dina/segundo/cm². Los resultados se expresan generalmente en "centipoise" (cP). Esta unidad es igual a 1 milipascal.segundo (mPa.s).

$$1\text{mPa.s} = 1\text{ cP}$$

Existen distintos tipos de fluidos, dependiendo de si, en atención a su estado físico, consideramos el número de fases que los compone. De esta forma, la sangre la podemos encuadrar dentro del grupo de los denominados fluidos multifásicos, con una fase sanguínea dispersa en suspensión y otra continua o plasmática. La fase considerada dispersa, podemos encontrarla de dos formas: en estado de dispersión total y en estado de agregación. Diversos elementos de la fase continua interactúan con elementos de la fase dispersa y determinan un estado mayor o menor de agregabilidad y, por lo tanto, de mayor o menor viscosidad sanguínea.¹²³⁻¹²⁴ De igual forma, el plasma o fase continua puede encontrarse disperso o peptidizado (determinado por un estado de mayor o menor agregabilidad molecular).

Una de las propiedades de la sangre es la de fluir con una viscosidad no muy superior a la del plasma, pese a estar constituida en la mayor parte de los casos por un volumen celular superior al 50%. Es decir, la viscosidad sanguínea final, no es proporcional a la viscosidad plasmática e intraeritocitaria.

Siguiendo las directrices del Comité Internacional para la Estandarización Hematológica,¹²⁵ el plasma puede considerarse para todos los efectos como un fluido con un comportamiento de tipo newtoniano, es decir, la relación entre la tensión de cizalladura (τ) y la velocidad de deformación, es de tipo lineal. Por lo tanto, esta fase sanguínea queda definida por el valor de su viscosidad.¹²² Este hecho hace que la valoración de la viscosidad plasmática se realice de forma más fiable con el viscosímetro de tipo capilar.¹²⁶

5.2.1.2. Viscosidad y la fracción proteica:

Las proteínas plasmáticas mantienen el volumen plasmático y con él regulan la viscosidad de la sangre, ejerciendo una presión oncótica que tiende a recuperar fluido tisular para llevarlo de nuevo a la sangre. Además, poseen importancia adicional en el transporte de un gran número de sustancias como los lípidos, fármacos, metales, etc.

La viscosidad del plasma del neonato es inferior a la del adulto, especialmente por la diferencia en las proteínas plasmáticas y la plasticidad que le proporcionan los hematíes fetales, los cuales son mucho más deformables que los del adulto.¹²⁷

5.2.1.3. Papel del fibrinógeno:

El fibrinógeno, una molécula de 340.000 daltons, parece ejercer una gran influencia en la viscosidad, fundamentalmente debido a su mayor peso molecular, a su facilidad para formar multímeros y a su interacción con las membranas eritrocitarias, determinando su agregación y, por lo tanto, un incremento en la viscosidad sanguínea.

Existen otras fracciones proteicas, como las α_1 -globulinas y las β -globulinas, que pueden tener repercusiones sobre la viscosidad sanguínea no despreciables.

5.2.1.4. Comportamiento hemorreológico de la fase globular sanguínea:

El estudio de la hemorreología es en definitiva el estudio del flujo sanguíneo y de sus modificaciones.

En el neonato los valores del hematocrito sufren modificaciones dinámicas desde el nacimiento y en las horas que siguen al clampaje del cordón umbilical. Así, parece ser que las cifras máximas de hematocrito se obtienen a las 4 horas de vida. El incremento observado puede ser de hasta el 20%; estos valores se estabilizan posteriormente y a las 12-18 horas posteriores al nacimiento son sólo un 2% superior a las del momento del parto.¹²⁷ **No debe sorprendernos a la vista de estos datos, que la policitemia venosa sea fácilmente sobrevalorada.**

Si el hematocrito es del 50%, parece existir un aumento significativamente mayor de la viscosidad en sangre de adultos, respecto de los valores obtenidos en neonatos; el aumento del hematocrito hasta valores próximos al 65%, hacen desaparecer estas diferencias entre el adulto y el neonato.¹²⁸ La viscosidad relativa (cociente entre la viscosidad sanguínea y la viscosidad plasmática) a altas tasas de cizallamiento y para un hematocrito del 50%, es mayor para el neonato que para el adulto. Si resuspendemos los eritrocitos neonatales en plasma del adulto, estas diferencias desaparecen,¹²⁹ lo cual nos indica la gran importancia que el plasma tiene sobre la reología sanguínea.

A pesar del mayor valor medio del hematocrito en recién nacidos a término y pretérmino, la agregabilidad eritrocitaria resulta menor en neonatos que en adultos; ello podría deberse a la mayor viscosidad plasmática existente en sujetos adultos, resultado de una concentración de proteínas mayor que en el recién nacido. Aunque no parecen existir diferencias sexuales en cuanto a la viscosidad plasmática y agregabilidad, el hematocrito sí muestra diferencias significativas, siendo mayor en el hombre que en mujeres.¹³⁰

5.2.1.5. Reología de la sangre:

Los factores que influyen sobre la viscosidad sanguínea pueden agruparse en plasmáticos y globulares. Los factores plasmáticos vienen representados globalmente por el valor de la viscosidad plasmática (parámetro de comportamiento newtoniano). Entre los factores eritrocitarios destacan parámetros macrohemorreológicos como el hematocrito, y parámetros

microhemorreológicos, como son la agregabilidad eritrocitaria, la deformación eritrocitaria y la viscosidad eritrocitaria.

El concepto de **hiperviscosidad**, que tradicionalmente se refería a un aumento de la viscosidad plasmática y sanguínea, adquiere en la actualidad una formulación más general, de manera que la hiperviscosidad puede venir dada por el incremento de alguno de los factores que intervienen en la viscosidad:

- **Viscosidad plasmática.**
- **Hematocrito.**
- **Agregación de los eritrocitos.**
- **Rigidez eritrocitaria.**
- **Concentración de leucocitos y plaquetas.**

Aunque la anomalía de alguno de los factores suele acompañarse de un incremento de la viscosidad sanguínea global, en ocasiones, el aumento de un factor aislado se combina con la disminución de algún otro, resultando una viscosidad sanguínea normal o incluso baja.

5.2.1.6. Repercusiones del hematocrito sobre la viscosidad sanguínea:

El hematocrito es el indicador más importante del volumen de la fase dispersa y de una importancia primordial sobre la viscosidad de la sangre. En la mayoría de los trabajos consultados, existe una correlación estadísticamente significativa entre el hematocrito y la viscosidad sanguínea.¹³¹ Incrementos del valor del hematocrito para una velocidad de deformación constante, determina un incremento de la viscosidad sanguínea.

La relación entre la viscosidad sanguínea y el hematocrito suele estudiarse en base a la viscosidad relativa, que es el cociente entre la viscosidad sanguínea y la viscosidad plasmática.

$$\eta_r = \frac{\eta_s}{\eta_p}$$

Sin duda, el aspecto de la Hemorreología más estudiado en los últimos años es la relación, participación y repercusiones del hematocrito sobre el síndrome de hiperviscosidad neonatal. La definición comúnmente aceptada de **policitemia neonatal** es la de aquel **hematocrito venoso igual o superior al 65%**.¹³²⁻¹³⁴

Esta definición, debida a McIntosh y Walter, se fundamenta en el hecho de que existe una relación virtualmente lineal entre la viscosidad y el hematocrito venoso cuando éste es inferior al 42%; la relación se hace exponencial a partir de este valor. Por encima de un hematocrito superior al 65%, se aprecia un incremento ostensiblemente mayor de la viscosidad por cada unidad de aumento del hematocrito. Sin embargo, dentro del capilar del neonato las cosas no son exactamente iguales, pues se ha demostrado que la viscosidad disminuye en los

capilares de menos de 0.3 mm por efecto de la disposición de las partículas dentro del flujo.

El eritrocito del neonato tiene diferencias importantes desde el punto de vista morfológico y físico con respecto al del adulto. La membrana celular es más rígida, la célula tiene una forma más globulosa y es de mayor tamaño; sin embargo, tiene la propiedad de no apilarse en columnas y, por lo tanto, tiende menos a la agregación cuando los flujos son extremadamente lentos.

La hiperviscosidad, además de relacionarse con el hematocrito, también puede hacerlo con aquellas anomalías de los eritrocitos que determinen una mayor o menor deformabilidad. Un pH sanguíneo bajo y la disminución de la temperatura corporal, son algunas de las alteraciones que se observan con frecuencia en el neonato, y que se saben contribuyen al incremento de la viscosidad sanguínea.¹³²

5.2.1.7. Influencia de la temperatura sobre la viscosidad:

La viscosidad plasmática disminuye a medida que aumenta la temperatura, observándose una disminución del 2-3% de las cifras de viscosidad por cada grado centígrado de aumento de temperatura en el intervalo de 25°C a 37°C (en nuestro estudio, la viscosidad fue medida a una temperatura constante de 23°C).¹³⁵

5.2.1.8. Importancia de la serie blanca y plaquetaria en el síndrome de hiperviscosidad:

Se ha observado un incremento de la resistencia vascular y de la viscosidad sanguínea en pacientes leucémicos, en los que existen grandes incrementos del número de células blancas. En el neonato, el paquete celular blanco parece menos deformable que el del adulto, por lo que, si a esto le añadimos otras circunstancias que a veces ocurren en el recién nacido, como hipoglucemia, acidosis o hipotermia, podemos afirmar que tanto la fracción blanca como la roja determinan un papel importante en el flujo capilar.⁹⁹ En nuestro estudio, la mayoría de los fetos tuvieron una evolución dentro de la normalidad las primeras 48 horas.

5.2.1.9. El cordón umbilical como aproximación a la hemorreología fetal:

La sangre procedente del cordón umbilical muestra diferencias hemorreológicas sustanciales en relación a la procedente de la madre, diferencias explicables en base a la composición proteica del plasma y distinto recuento y morfología celular.¹³⁶

El hematocrito de los diversos compartimentos de la unidad fetoplacentaria (vena placentaria, arteria y vena umbilical) no muestra diferencias compartimentales sustanciales, siendo más elevado que el observado en sangre materna.¹³⁶ El recién nacido, pese a su mayor valor de hematocrito y volumen corpuscular, muestra una viscosidad sanguínea similar a la materna,¹³⁷ muy probablemente en relación con la menor agregación celular a bajas aceleraciones de flujo, circunstancia ésta última en relación con los bajos valores de fibrinógeno, IgM y la mayor actividad fibrinolítica observada en el feto.¹³⁶ Cuando las viscosidades maternas y fetales se miden a valores de hematocrito corregidos de un 45%, observamos una viscosidad sanguínea fetal significativamente más

baja que la materna,¹³⁷ circunstancia explicable por la menor viscosidad plasmática fetal.

Podemos considerar la sangre fetal bajo dos aspectos fundamentales: el alto valor de hematocrito y el gran volumen celular, que se contrarrestan in vivo con la baja viscosidad plasmática y reducida agregabilidad. En consecuencia, cualquier situación capaz de incrementar la concentración de proteínas plasmáticas fetales, aumentar el hematocrito o disminuir la deformabilidad eritrocitaria, debe considerarse, por sí misma, como un riesgo añadido capaz de alterar el flujo sanguíneo fetoplacentario.

5.2.1.10. Modificaciones hemorreológicas durante el parto:

Son escasos los conocimientos que actualmente se tienen sobre la reología sanguínea en el periodo del parto. Las situaciones de estrés y la actividad muscular intensa pueden modificar de forma importante la viscosidad sanguínea.¹³⁸ La viscosidad sanguínea aparente y corregida a valores de hematocrito del 45% aumenta durante el parto para normalizarse después del alumbramiento.¹³⁹

El hematocrito, la viscosidad plasmática y la agregación eritrocitaria se mantienen sin cambios durante el parto, descendiendo tras el alumbramiento; por ello el aumento de la viscosidad sanguínea se atribuye al aumento de la rigidez de los hematíes durante el parto, que se corrige tras el alumbramiento.¹³⁹ Al igual que en otros momentos de la gestación, la relación entre viscosidad y flujo ha sido puesta de manifiesto mediante ecografía con doppler.¹⁴⁰

5.2.1.11. Adaptación fisiológica a la hiperviscosidad:

Usualmente, aunque no siempre, el aumento de la viscosidad sanguínea acompaña a la policitemia y se ha asociado con un pobre resultado neurológico. Sin embargo, los estudios más recientes no han demostrado ningún patrón de daño neurológico.¹⁴¹ Tanto las transfusiones sanguíneas como la transfusión placentaria fisiológica, cuando se pinza tardíamente el cordón umbilical, incrementa la viscosidad sanguínea en los recién nacidos.

Dicho incremento se acompaña de una disminución significativa de la resistencia vascular que produce mayor vasodilatación pulmonar y sistémica, componentes esenciales de la adaptación neonatal a la vida extrauterina.⁵

Hay casos documentados de niños con síndrome de hiperviscosidad con elevados niveles de hematocrito, pero cuyas madres habían presentado durante el embarazo diabetes gestacional o embarazos prolongados cronológicamente. En estos casos, la ligadura del cordón umbilical se realizó de manera precoz y, por lo tanto, con menos volumen sanguíneo para el feto, menor presión sanguínea¹⁴² y vasoconstricción junto con la policitemia.¹⁴³ El problema base del síndrome de hiperviscosidad es la vasoconstricción debido a la hipovolemia, que lleva a una inadecuada perfusión tisular y, en consecuencia, a un aumento del hematocrito.

5.2.2. POLICITEMIA .-

Aunque policitemia e hiperviscosidad son términos que se utilizan de forma indistinta, no es correcto y representa una simplificación injustificada. El término hiperviscosidad, se relaciona con la fuerza requerida para lograr el flujo; la viscosidad de la sangre es afectada por la masa eritrocitaria, proteínas como el fibrinógeno (ya comentado) e interacción de los elementos celulares circulantes. **La policitemia neonatal se define como el estado en el cual el hematocrito es superior al 65%.**

La volemia del recién nacido a término oscila entre 85 y 100 ml/Kg y en el pretérmino puede subir hasta 110 ml/Kg. Estos valores pueden verse aumentados de una forma muy importante con una mayor transfusión sanguínea (hasta un 35% en algunos casos), como ya hemos comentado en otros apartados.

Pero sin duda alguna, no hay que dejar de lado los estados hipovolémicos a los cuales el feto está sometido en algunas circunstancias, especialmente en los casos de compresión aguda del cordón umbilical. Por compresión de la vena umbilical, el recién nacido puede no recibir un adecuado retorno desde la placenta al nacer, con una volemia reducida, que generalmente, se expresa el primer día por una fuerte caída del hematocrito (incluso a niveles de anemia).

Bajo un punto de vista metodológico, la valoración del estado poliglobúlico es factible hacerla mediante la determinación del valor del hematocrito en sangre periférica.¹⁴⁴ Esta observación se ve avalada por el mismo grupo de trabajo¹⁴⁴ y las observaciones de Shohat,¹⁴⁵ que especifican una buena correlación entre los valores de cordón umbilical y sangre periférica a las dos horas de vida.

La asociación entre pinzamiento tardío del cordón umbilical y la policitemia, se originó en un estudio descriptivo, realizado en 1977 por Saigal y Usher.¹⁴⁶ Describieron un subgrupo de recién nacidos que desarrollaron “plétora neonatal sintomática”, con varios tiempos de pinzamiento del cordón umbilical.

En 1992 se realizó un estudio clínico aleatorizado, en el cual no se encontraron diferencias en los resultados neurológicos a los 30 meses de seguimiento, entre los niños con antecedentes de policitemia neonatal comparados con aquellos sin policitemia. En la parte más extrema del protocolo, los recién nacidos a término y pretérmino fueron mantenidos a 30 cm por debajo del introito vaginal, realizándose la ligadura del cordón umbilical a los 5 minutos. Ninguno de los pretérmino desarrolló policitemia, pero dos de los recién nacidos a término tuvieron niveles de hematocrito superiores al 70%, a las cuatro horas de vida, tornándose uno de ellos sintomático.¹⁴⁷

Este estudio es el único que sugiere una asociación entre el pinzamiento tardío del cordón umbilical y la policitemia, y sus resultados no han sido confirmados.

Otras causas de policitemia, mejor documentadas que el pinzamiento tardío del cordón umbilical, son condiciones maternas preexistentes, tales como la diabetes, preeclampsia y la hipertensión arterial, las cuales aumentan el riesgo de hipoxia crónica intrauterina. La eritropoyesis compensadora a esa hipoxia puede producir policitemia al nacer.

En una revisión sistemática de la literatura de los estudios clínicos aleatorizados y estudios clínicos controlados de las dos últimas décadas, se

concluyó que **no hay evidencia científica para afirmar que el pinzamiento tardío del cordón umbilical causa policitemia sintomática.**

5.2.3. HIPERBILIRRUBINEMIA .-

La preocupación se originó en 1972, cuando se observó en un grupo de recién nacidos pretérmino con ligadura tardía, niveles mayores de bilirrubina.¹⁴⁸

En la revisión sistemática realizada por Mercer y cols.,⁵ se incluyeron cuatro estudios clínicos aleatorizados con 409 recién nacidos a término y siete con 247 pretérmino. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de bilirrubina en los niños con pinzamiento tardío, comparados con aquellos con pinzamiento precoz.

Bajo ciertas circunstancias la bilirrubina puede ser tóxica para el sistema nervioso central produciendo daño neurológico permanente.¹⁴⁹⁻¹⁵⁰ Por otro lado, estudios recientes han sugerido que la bilirrubina podría producir efectos beneficiosos a nivel celular, por tener propiedades antioxidantes.¹⁵¹⁻¹⁵² Más del 50% de los recién nacidos desarrollan ictericia.¹⁵³

El resurgimiento de la alimentación con leche materna ha aumentado la incidencia de ictericia.¹⁵⁴ La ictericia fisiológica del neonato es un proceso benigno autolimitado; se estima que se presenta en un 40 a 60% de los nacidos a término y en el 80% de los pretérmino.¹⁵⁵ Sin embargo, cuando la ictericia no se resuelve dentro de las primeras dos semanas de vida en el recién nacido a término (o por más de 3 semanas en el prematuro) o cuando se encuentran más de 2 mg/dl de bilirrubina conjugada en suero, la ictericia no se puede considerar como fisiológica y por tal razón se debe realizar una evaluación completa para determinar su causa.¹⁵⁶

La ictericia resulta de un incremento de bilirrubina presentada al hígado, o de la imposibilidad de excretar la bilirrubina por disyunción en el proceso metabólico hepático, intestinal o renal. Es clínicamente evidente cuando existe una concentración de bilirrubina mayor de 5 mg/dl en suero.

5.2.3.1. Toxicidad de la bilirrubina:

La bilirrubina se comporta como un “veneno celular”,¹⁵⁵ produciendo toxicidad en diferentes órganos y tejidos corporales, mediada por la alteración de los procesos de respiración celular (desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y bloqueo en la producción de ATP) y de sistemas enzimáticos.¹⁵⁷⁻¹⁵⁸ De esta forma y como se conoce, la toxicidad no se limita al sistema nervioso central, pudiendo observarse sus efectos a nivel renal (células tubulares), digestivo (células de la mucosa intestinal) y del páncreas.¹⁵⁵ Pero es precisamente la lesión cerebral la que conlleva mayores secuelas y mortalidad. Evitarla es precisamente lo que ha generado la investigación al respecto.

5.2.3.2. Encefalopatía bilirrubínica:

Se denomina “Kernicterus” a la coloración amarilla de los ganglios basales producida por impregnación con bilirrubina.

La toxicidad cerebral es producida por la bilirrubina indirecta o no conjugada, que circula libre en el plasma, insoluble en agua y con gran afinidad por los lípidos de las membranas celulares.

Es necesario anotar que se desconocen de forma exacta los niveles de bilirrubina tóxicos para el sistema nervioso central. Siempre se habían aceptado valores de 20 mg % o más para recién nacidos a término y sanos. Pero revisiones recientes han sugerido que 25 mg % y aún unos puntos más serían los dañinos en este grupo de pacientes.^{149-150,159-161} Estos valores pueden ser sustancialmente inferiores en recién nacidos prematuros y/o enfermos.^{149-150, 161}

5.2.3.3. Ictericia fisiológica del recién nacido:

La mayoría de los recién nacidos desarrollan niveles de bilirrubina sérica no conjugada superiores a 2 mg/dl durante la primera semana de vida.¹⁶² Este valor crece normalmente en los recién nacidos a término hasta un promedio de 6-8 mg/dl a los tres días de vida y disminuye a menos de 1.5 mg/dl al décimo día en recién nacidos normales. Un aumento hasta de 12 mg/dl se considera dentro de límites fisiológicos.¹⁶² En los neonatos pretérmino, debido a que el transporte de bilirrubina y los sistemas de conjugación son inmaduros, la hiperbilirrubinemia puede persistir por un mayor tiempo, tanto como dos o tres semanas. En ellos el pico puede ser de 10-12 mg/dl al quinto día de vida y puede aumentar a más de 15 mg/dl.^{153, 162}

Los niveles séricos de bilirrubina generalmente no exceden los 15 mg/dl y frecuentemente, de forma espontánea, llegan a niveles normales. Por razones aún no bien conocidas, los recién nacidos asiáticos tienen un pico más alto de niveles de bilirrubina e ictericia más prolongada.^{153, 158}

Se ha podido demostrar que los recién nacidos a término y sanos que son alimentados con leche materna, tienen entre 3 y 4 veces más posibilidad de desarrollar ictericia moderada y severa que los alimentados con biberón.¹⁶³

Por otro lado, también se ha demostrado en varios estudios que la ictericia por lactancia materna puede prolongarse semanas o meses.^{156, 164-166}

5.2.4. TAQUIPNEA TRANSITORIA DEL RECIÉN NACIDO .-

Los defensores del pinzamiento temprano del cordón umbilical postulan que la policitemia y la hiperviscosidad resultantes del pinzamiento tardío, incrementan la presión venosa central con disminución del retorno venoso y linfático, compromiso de la reabsorción del líquido pulmonar fetal y aumento del riesgo de taquidnea transitoria del recién nacido.

Sin embargo, los estudios clínicos controlados realizados en las últimas dos décadas, no evidencian mayor incidencia de esta afección en los niños en quienes se realizó el pinzamiento tardío del cordón. En cambio, sí se ha documentado una mayor frecuencia respiratoria durante las primeras tres horas de vida que no requiere tratamiento.²⁷

Los trabajos que relacionan la incidencia del Síndrome de Dificultad Respiratoria Idiopática (SDRI) con el momento de la ligadura del cordón, son contradictorios y no permiten llegar a conclusiones definitivas. Así, Moss³⁹ observó menor incidencia de SDRI y letalidad en los recién nacidos de ligadura tardía en relación a los de ligadura precoz.

Bound¹⁶⁷ refiriéndose a la letalidad por SDRI, corroboró el hallazgo. Contrariamente, Yao²⁵ encontró una menor letalidad (para el SDRI) en los recién nacidos con ligadura precoz. Finalmente, en otros estudios no se encontraron diferencias.^{32, 38}

En el caso de que el nacimiento se produzca mediante cesárea, para Kunzer⁵¹ existe una mayor incidencia de SDRI si la transfusión placentaria no se lleva a cabo.

Para los prematuros existe mayor consenso: la transfusión placentaria es beneficiosa porque la incidencia de SDRI es menor con ligadura tardía.^{50, 51}

II. MELATONINA

En 1917, McCord y Allen describieron que la glándula pineal bovina producía una sustancia capaz de palidecer la piel de los anfibios. En 1960, Lerner y cols.¹⁶⁸ aislaron la que se considera la sustancia más importante secretora de la pineal: la N-acetil-5-metoxitriptamina o **melatonina** (aMT) (de melanina y serotonina, porque se observó que era similar a la serotonina y que clareaba el pigmento cutáneo de algunos anfibios). Posteriormente, Wurtman y cols.¹⁶⁹ demostraron que la aMT ejerce su acción generalmente sobre órganos endocrinos y, casi simultáneamente, se estableció que la epífisis está influenciada de forma decisiva por factores ambientales, principalmente la iluminación (ciclos luz-oscuridad).

Posteriormente se descubrieron otros indoles pineales: la serotonina (HT), N-acetil-serotonina (aHT), 5-metoxi-triptofol (ML) y 5-hidroxi-triptofol (TRP). El precursor común de las indolaminas pineales es el triptófano (TRP) y en la pineal existen todos los enzimas necesarios de la vía metabólica para la producción de los 5-hidroxi y 5-metoxiindoles a partir de aquel.¹⁷⁰⁻¹⁷¹ Además, la glándula pineal contiene los enzimas necesarios para la síntesis de la NE, dopamina (DA) y GABA.

Se discute la existencia en la pineal de algunos mamíferos de la arginina-vasotocina (AVT), una hormona pineal de actividad parecida a la neurohipofisaria,¹⁷²⁻¹⁷³ pero que tendría mayor parecido químico con la oxitocina. Pavel y cols.¹⁷⁴ postularon que la melatonina podría ser el factor liberador de AVT, sintetizadas en la pineal de los mamíferos, incluido el hombre, y liberada en el LCR.¹⁷⁵

1. METABOLISMO DE LA MELATONINA .-

1.1. Biosíntesis .-

La vía metabólica para la biosíntesis de la melatonina comienza con la captación por el pinealocito del triptófano (TRP). Este aminoácido esencial sufrirá una hidroxilación para producir 5-OH-triptófano (HW) y posteriormente una descarboxilación hasta convertirse en serotonina (HT). Las enzimas que intervienen en este proceso son la triptófano hidroxilasa (TH) y la 5-OH-triptófano descarboxilasa (AAD), respectivamente.¹⁷⁶ La primera de ellas está en altas concentraciones en las células productoras de HT y usa una pteridina como cofactor. El mecanismo regulador a partir de la biodisponibilidad del sustrato (triptófano) es mucho más importante que la retroalimentación negativa por los productos finales.¹⁷⁶

Una vez sintetizada y mediante la serotonina-N-acetil-transferasa (NAT), la serotonina será acetilada en posición N, formándose N-acetil-serotonina (aHT). Después, por intermedio de la hidroxil-indol-O-metil-transferasa (HIOMT), sufrirá una metilación en posición 5 para producir melatonina (aMT).

Tanto la NAT como la HIOMT son enzimas características de la glándula pineal.¹⁷⁷⁻¹⁷⁸ Ambas son estables y se han medido en glándulas pineales postmortem en concentraciones variables, según la hora en que se produjo el fallecimiento.¹⁷⁹

La presencia o ausencia de iluminación en el ambiente, a través de las vías que veremos más adelante, produce la activación de la AAD o de la TH, NAT y HIOMT, respectivamente.¹⁸⁰ De esta forma, el ritmo de actividad de la NAT y, por lo tanto, de la concentración de aMT varían con las condiciones naturales de luminosidad.¹⁸¹⁻¹⁸² La magnitud y duración del pico nocturno de actividad de NAT es proporcional a la amplitud del periodo de oscuridad,¹⁸³⁻¹⁸⁴ sometiendo al animal de experimentación a breves pulsos de luz durante la fase oscura, se produce un descenso rápido e importante de la actividad NAT.¹⁸⁵ Considerando la gran amplitud del ritmo que muestra la NAT a través del ciclo de 24 horas, se ha propuesto que este enzima es la limitante en la producción de melatonina.¹⁸⁶

En la concentración de HIOMT también existiría un ritmo circadiano y circaanual^{179, 187} con mayor actividad de ésta durante la oscuridad. Sin embargo, se cree que la variación observada en dicha enzima durante el ciclo de 24 horas, no representa un verdadero ritmo circadiano, sino que depende de cambios en la disponibilidad del sustrato.¹⁸⁸

1.2. Distribución .-

Una vez liberada a la circulación, la melatonina se une (con alta capacidad y baja afinidad) en un 60-70% a las proteínas plasmáticas (albúmina), lo cual no impide que atraviese la barrera hematencefálica (BHE). Su vida media varía según los autores entre 20¹⁸⁹ y 45-60 minutos.¹⁹⁰

La melatonina se distribuye por todos los tejidos aunque tiene mayor afinidad por la pineal, ciertos órganos endocrinos (ovarios, testes, corteza adrenal, tiroides, etc.) y la cadena nerviosa simpática. Desde el torrente sanguíneo, la melatonina difunde pasivamente hacia la saliva donde su concentración es de un 27-32% de la plasmática,¹⁹¹ con una excelente correlación entre ambas.¹⁹²⁻¹⁹³ La tasa en saliva puede representar la fracción libre y biológicamente activa,¹⁹¹ pues no se ha demostrado su síntesis dentro de las glándulas salivares.¹⁹⁴

Diversos estudios difieren en si la concentración de melatonina en el LCR es mayor o menor que en el plasma. En la rata, tras la pinealectomía, la concentración de melatonina en el LCR es del 20% respecto a la concentración sérica nocturna (aproximadamente los niveles diurnos).¹⁹⁵ En monos rhesus y en humanos las concentraciones en el LCR son similares a las plasmáticas y siguen a éstas, tanto en su ritmo circadiano como tras la administración exógena.

Se discute sobre la procedencia de la melatonina en el LCR. Si pasara directamente al LCR, sería de esperar que su concentración fuese mayor en el III ventrículo (la pineal se sitúa en su vecindad) y descendería progresivamente conforme la muestra proviniera de un nivel inferior. Durante las horas de luz no se ha demostrado dicho gradiente para la melatonina (sí para el ácido 5-hidroxi-indol-acético, principal metabolito de la serotonina).¹⁹⁵ Se cree que el origen de la melatonina presente en el LCR es el transporte activo por el plexo coroideo.

1.3. Eliminación .-

El 95% de la melatonina es metabolizada en el hígado mediante 6-hidroxilación (aproximadamente el 30%) y posterior glucurono o sulfato conjugación (aproximadamente el 70%)^{178, 196-197} y eliminación por la orina. En personas normales, una dosis de melatonina marcada se sigue de la aparición en

la orina de aHT (N-acetil-serotonina) y 6-OH-aMT marcadas; este hallazgo de Young y cols.,¹⁹⁸ fundamenta la idea de que, en el hombre, la demetilación es una vía metabólica propia de la aMT, al igual que la 6-hidroxilación.

La aHT puede ser considerada como una hormona, siendo un hecho a destacar el que la melatonina pueda ser metabolizada hacia su precursor. Esto último sugiere la existencia de un mecanismo "feed-back" encargado de regular la producción de aMT, con la posibilidad de obtener un efecto biológico distinto según el momento del día o la estación del año.¹⁹⁸

Los datos disponibles sobre la excreción urinaria de metabolitos conjugados de la melatonina indican que ésta es del mismo orden de magnitud que la producción de melatonina, mientras que la excreción de melatonina libre representa una fracción muy pequeña.¹⁹⁹ Los niveles de melatonina guardan una relación directa entre sangre y orina.²⁰⁰

2. REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA .-

La biosíntesis de los metoxi-indoles está controlada por un impulso nervioso simpático que les imprime un ritmo circadiano sincronizado con el ciclo de la luz, y es modulado por las hormonas circulantes que modifican el metabolismo pineal.

2.1. Regulación nerviosa y lumínica .-

Se ha descrito un ritmo circadiano de melatonina en la mayoría de los animales estudiados: hombre, mamíferos, pájaros, etc. Lo más destacable de este ritmo es la presencia de altos niveles nocturnos de melatonina y bajos niveles diurnos.²⁰¹ Este ritmo presente en los fluidos orgánicos (orina, plasma y LCR), es la expresión del que tiene lugar en la glándula pineal.

La luz ambiental, por medio de las vías nerviosas - que describiremos con posterioridad- modula la liberación de noradrenalina por las terminaciones simpáticas libres entre los pinealocitos. La noradrenalina actúa sobre los receptores beta tipo 1 que están presentes en la membrana del pinealocito²⁰¹⁻²⁰². Como resultado de la interacción noradrenalina-receptor beta, se produce un aumento brusco del AMPc, debido al incremento de la actividad de la adenilciclase. El aumento del AMPc induce una elevación del NAT (y otros enzimas secretores) a través de un incremento del ARNm necesario para la síntesis de las proteínas y, quizás, induciendo la síntesis de una proteína necesaria para que la NAT aumente su actividad.²⁰³

Durante el día, la luz provoca que no se libere noradrenalina en las terminaciones nerviosas simpáticas pineales; por lo tanto, durante el día hay una caída de los niveles de AMPc, inactivación del NAT y bloqueo en la formación de melatonina. En la oscuridad ocurre lo contrario, con un aumento en la secreción de melatonina.¹⁹⁴

Se ha demostrado que en la rata, la actividad NAT aumenta 30-70 veces cada noche y es influenciada fácilmente por la exposición a la luz o a los fármacos. La actividad HIOMT sólo aumenta cada noche un 10-20% y se modifica de modo progresivo durante varios días.²⁰⁴⁻²⁰⁵ Como vemos, la HIOMT responde peor a los cambios de iluminación y, en la rata recién nacida, el estímulo neural parece que no es esencial para el inicio de su actividad. Sin embargo, resulta evidente que el control neural es el más importante para

mantener la actividad HIOMT en niveles normales.²⁰⁶ Por otra parte, los niveles de NAT y HIOMT se suprimen manteniendo a los animales en condiciones de iluminación constante (luz constante)²⁰⁴ o por la exposición aguda a la luz durante el periodo de oscuridad.²⁰⁷ La intensidad de la luz necesaria para suprimir la actividad NAT nocturna depende de si el animal es diurno o nocturno (mayor intensidad en los diurnos).²⁸⁻²⁰⁹ Bajo condiciones de oscuridad constante se suprime la actividad de la HIOMT, pero no la de NAT y HW-descarboxilasa (5-OH-triptófano-descarboxilasa); por lo tanto, los segundos tendrán un verdadero ritmo circadiano endógeno.²⁰⁵

Mediante la regulación anterior, la concentración pineal de serotonina alcanza un pico al medio día y una concentración mínima por la noche; ritmo opuesto al de la melatonina. Estos dos ritmos son independientes, pues en una cepa de ratones (BALB/c) con deficiencia genética en la producción de melatonina, mantiene el ritmo de serotonina.²¹⁰

Este control puede ser más complejo pues cada día existen más datos a favor de la participación de otros neurotransmisores, además de la noradrenalina: serotonina,¹⁹⁶ prostaglandinas, taurina, octopamina.²⁰¹ También podrían participar otros receptores distintos a los de beta: alfa pre y postsinápticos.²¹¹

Otro punto de complicación es la presencia de un cambio a lo largo del día del número o sensibilidad de los receptores del pinealocito.²⁰¹⁻²⁰² La propia melatonina modifica la respuesta adrenérgica pues, in vitro, aumenta la unión del agonista adrenérgico a su receptor.²¹² Se ha postulado que durante la noche, los niveles de melatonina restaurarían la sensibilidad beta perdida durante el día, por la exposición a altas concentraciones de catecolaminas circulantes.²¹³

2.2. Regulación hormonal .-

Además del control lumínico expuesto anteriormente, existe otro de tipo hormonal. La conjugación de ambos será el que determine el correcto funcionamiento de la glándula pineal. Parece claro que la pineal es una glándula en la que se desarrollan a la vez los mecanismos de transducción neuroendocrina y endocrino-endocrina; a ella llegan señales endocrinas y neuronales y reacciona dando una respuesta hormonal.²⁰⁰

2.2.1. Influencia del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal .-

La hormona sexual más estudiada ha sido el estradiol, que actúa a nivel del metabolismo pineal regulando el contenido de HIOMT y la liberación de melatonina. El número de receptores (densidad) y su paso desde el citoplasma al núcleo está bajo el control de la noradrenalina, vía receptores beta adrenérgicos.

El aumento de estradiol provoca una inhibición de la HIOMT y el descenso de estradiol da lugar a una elevación de HIOMT. Esto puede ocurrir de forma directa o mediada por los cambios de LH y FSH (aumentan la actividad de HIOMT). La actividad pineal de NAT no parece estar influenciada por el estradiol.²¹⁴

2.2.2. Influencia de las hormonas de estrés .-

La capacidad de un determinado estímulo para incrementar el contenido pineal y sérico de melatonina depende del momento del día y de las manipulaciones previas a las que el animal es sometido:

- Si el estímulo es aplicado durante el día, o tras varios días de iluminación continua, se obtendrá un importante incremento de NAT y, consecuentemente de melatonina, por el aumento de los receptores beta-postsinápticos.

- Si el estímulo es aplicado durante la noche, la pineal estará previamente activada y los receptores beta serán relativamente insensibles a las concentraciones locales de catecolaminas, no ocurriendo alteración o en todo caso un descenso en la concentración de melatonina.²¹⁵

Dado que el estímulo pineal por el estrés agudo puede suprimirse mediante la demedulación adrenal, es posible pensar que sea secundario a la liberación de catecolaminas por la médula suprarrenal, punto éste no admitido por todos los autores.²¹⁶ La respuesta pineal al estrés crónico parece depender de los esteroides suprarrenales¹⁷¹ y podría conducir a un descenso en la producción de melatonina, tanto en animales de experimentación como en humanos.²¹⁵

2.3. Receptores de membrana implicados en la síntesis de melatonina .-

La noradrenalina, principal neurotransmisor implicado en la regulación pineal, actúa sobre los receptores beta y alfa. El número de receptores alfa-1 no sigue un ritmo circadiano y no disminuyen tras el estímulo con agonistas adrenérgicos. Sus variaciones ocurren lentamente, tal como ocurriría si su regulación se llevara a cabo por un proceso de síntesis y degradación.

De manera inversa a como hacen los beta-bloqueantes, las sustancias alfa-bloqueantes (v.g. fentolamina) no producen inhibición de la síntesis de aMT. Sin embargo, la fenilefrina (alfa-agonista) potencia y prolonga el estímulo de NAT obtenido bajo tratamiento con isoproterenol (beta-agonista).

2.4. Mecanismos intracelulares de regulación de la síntesis de melatonina .-

Los dos enzimas primordiales para la interpretación de la señal transmembrana mediada por la activación del receptor, son la adenilciclase y la proteinquinasa calcio fosfolípido dependiente. Así, la potenciación alfa-1 del estímulo beta sobre la acumulación de AMPc parece llevarse a cabo mediante la elevación del calcio iónico intracelular y de la actividad fosfolipasa C.

Los agonistas alfa-1, además de provocar un incremento del calcio intracelular y del "turn over" del fosfatidilinositol, producen un aumento de las prostaglandinas (en especial de la prostaglandina E2) y de los leucotrienos.

La influencia de la prostaglandina E2 sobre la síntesis de aMT puede resumirse en los siguientes puntos:²¹⁷

- Existencia de un receptor específico para prostaglandinas en las membranas pineales.²¹⁸

- El estímulo de la síntesis de AMPc y NAT, así como de la liberación de aMT mediante la prostaglandina E2.²¹⁹

- La inhibición de la síntesis de prostaglandinas impide el incremento nocturno de la actividad NAT y disminuye la síntesis de melatonina.

En presencia de noradrenalina, los inhibidores de la lipooxigenasa o los antagonistas de los leucotrienos, disminuyen de modo significativo la liberación de aMT por el medio de cultivo. En ausencia de NE, la vía de la lipooxigenasa (cuya activación requiere un aumento del calcio intracelular) tiene poca importancia en la síntesis de melatonina.

3. PAPEL FISIOLÓGICO DE LA MELATONINA .-

3.1. Órganos diana .-

Tras la inyección vía sistémica, la melatonina radiactiva (3H-aMT) penetra en todos los tejidos, incluido el cerebro. Se concentra de modo especial en la pineal, iris-coroides, ovarios, testes, adrenal, tiroides y en la cadena nerviosa simpática. A nivel del sistema nervioso central tiene mayor afinidad por las zonas límbicas, incluyendo el hipotálamo y el hipocampo.²²⁰

3.2. Receptores de melatonina .-

Se ha descrito la presencia de receptores de alta afinidad por la 3H-aMT en fracciones de membrana²²¹ y citoplasma²²² de neuronas y órganos periféricos de los mamíferos.²²³ El lugar de máxima concentración es el hipotálamo mediobasal (MBH).²²⁴ En la corteza occipital y cerebelar se detectan en un 73% y un 34% respectivamente, del número de receptores del hipotálamo mediobasal.²²¹ La presencia de abundantes receptores de aMT en el núcleo supraquiasmático es una evidencia más del papel de la melatonina en el sistema circadiano.^{220,225}

En la glándula pineal también se han descrito receptores de membrana de alta afinidad por la melatonina²²⁶. Su presencia había sido sugerida por la capacidad de la melatonina exógena de alterar bioquímica y morfológicamente a la pineal.

La capacidad para ligar la melatonina al receptor es baja al amanecer y aumenta a lo largo del día, para alcanzar un máximo al inicio de la noche.²²⁷ La mayor densidad de receptores para aMT en cerebro²²¹ y pineal,²²⁷ coincide con la máxima sensibilidad del órgano. Así, no sólo los niveles de aMT tienen un ritmo circadiano, sino que la sensibilidad del órgano diana tiene también tal variación.

3.3. Acciones de la melatonina .-

Aunque según diversos estudios,^{220-221,228} el hipotálamo es probablemente el lugar primario donde la melatonina ejerce su acción endocrina, esta hormona también puede actuar periféricamente.

Se han descrito diversas acciones de la melatonina a nivel central. Así, la administración intraventricular de ésta deprime los niveles de FSH y LH, y los implantes en la parte superior del tronco cerebral (fundamentalmente en las áreas preóptica medial y suprarretroquiasmática) inducen regresión gonadal.²²⁵ La aMT inhibe in vitro la liberación de dopamina por la retina¹⁸⁹ y el hipotálamo mediobasal.²²⁹⁻²³⁰ Estimula la liberación de somatostatina por el hipotálamo²³¹ y

aumenta la producción de GABA en el hipotálamo, cerebelo, corteza cerebral y glándula pineal de la rata.²³² A nivel periférico estimula la síntesis de progesterona por el cuerpo lúteo humano y de la rata.²³³

Es importante señalar la acción de la melatonina como moduladora de la respuesta al estrés²³⁴ y sus relaciones con la respuesta inmune y el sistema opioide endógeno. Maestroni y cols.²³⁵⁻²³⁶ han demostrado que la melatonina puede incrementar la respuesta inmune en ratones normales y contrarrestar el efecto del estrés agudo o el tratamiento con corticosteroides en la producción de anticuerpos, peso del timo y resistencia antiviral.

3.4. Mecanismo de acción de la melatonina .-

Puesto que el hipotálamo es el lugar primario donde la aMT ejerce su acción, numerosos estudios han intentado aclarar los eventos intracelulares que siguen a la estimulación por aMT del receptor a este nivel. Entre los mecanismos propuestos podemos destacar:

3.4.1. Inhibición de la síntesis de prostaglandinas .-

La aMT es capaz de inhibir la síntesis de prostaglandina E2 en el hipotálamo de ratas pinealectomizadas y atenuar fenómenos dependientes de las prostaglandinas.

El efecto, en general estimulante, de proliferación y secreción hipofisaria de las prostaglandinas podría contrabalancearse con el efecto, en general inhibitorio, de la aMT.²³⁷⁻²³⁸

3.4.2. Modificación de la síntesis de nucleótidos .-

La melatonina puede inducir un incremento en la concentración de GMPc en distintos tejidos y tipos celulares.²²⁰ Así, en el hipotálamo mediobasal de la rata la aMT aumenta la concentración de GMPc, al parecer por la interacción a nivel de sus receptores específicos; con el aumento del GMPc se produce un descenso en el AMPc.²²⁸

3.4.3. Alteración de los mecanismos contráctiles protein-dependientes .-

Diversos procesos dependientes de la síntesis de microtúbulos por la célula son inhibidos por la aMT. A nivel central, la aMT inhibe el transporte axónico rápido y, a nivel periférico, interfiere con el transporte agudo estimulado por la vasopresina.²³⁹

4. PRODUCCIÓN EXTRAPINEAL DE MELATONINA .-

La melatonina es sintetizada en diversos tejidos y órganos además de por la glándula pineal. En el hombre los lugares extrapineales para la síntesis de aMT, se encuentran en el tracto gastrointestinal y en los eritrocitos, mientras que en otros mamíferos también se produce en la retina y en las plaquetas.²⁴⁰

5. MELATONINA EN EL SER HUMANO .-

Analizamos a continuación, de forma específica, las influencias sobre el ritmo de producción de la melatonina en el ser humano, como es: ritmo circadiano y circanual, el menstrual, la edad y la pubertad.

5.1. Ritmo circadiano de la melatonina .-

La concentración plasmática de melatonina muestra un marcado ritmo circadiano, con altos niveles nocturnos y bajos durante las horas de luz, tanto en animales (independientemente de que sean de actividad diurna o nocturna)²⁴¹ como en el hombre.²⁴²

El periodo nocturno de elevación de la aMT puede ser definido como el momento cuando los niveles están por encima de la media aritmética de todo el día; aproximadamente sucede entre las 22.00 y las 09.00 horas,²⁴³ con un periodo de máxima secreción entre las 24.00 y las 02.00 horas.²⁴²

Birau²⁴² afirma que un ritmo circadiano de melatonina pueda ser definido como normal si cumple tres criterios:

1) La concentración plasmática de aMT a las 14:00 horas debe ser menor que a las 08:00 horas.

2) El doble de la concentración plasmática a las 14:00 horas es inferior a las de las 20:00 horas.

3) El triple de la concentración a las 14:00 es inferior a las de las 02:00 horas.

Waldhauser y Dietzel,²⁴³ estudiando las curvas de secreción de aMT (obtenidas en sujetos sanos voluntarios con extracciones cada 20-60 minutos), han encontrado una considerable variación interindividual en lo que se refiere al pico máximo de secreción y a la cantidad total de melatonina secretada (área bajo la curva de concentración-tiempo). Sin embargo, la duración de la elevación nocturna se mantiene bastante estable entre los individuos, con valores comprendidos entre las 8 y 9 horas.

Esto último está de acuerdo con la observación de que la secreción de melatonina es sincronizada por el ciclo luz-oscuridad ambiental. En todos los mamíferos estudiados hasta ahora, la exposición a la luz durante la noche disminuye los niveles séricos de aMT por inhibición de su biosíntesis y secreción.²⁴⁴⁻²⁴⁵ Debe tenerse presente que existen diferencias importantes entre especies con respecto a la sensibilidad a la luz. Así, Lewy y cols.²⁴⁶ encontraron que una luz de 500 lux (bastante por encima de una bombilla normal) era capaz de actuar en otros mamíferos, pero no tenía acción alguna en humanos. No obstante, McIntyre y cols.²⁴⁷ han demostrado que intensidades de 400-600 lux eran capaces de suprimir la liberación de melatonina en humanos. La inhibición está relacionada con la intensidad de la luz, pero es independiente de la duración de la exposición.²⁴⁷ Para complicar aún más las cosas, en una misma especie la sensibilidad a la luz varía también en función del régimen previo de iluminación²⁰⁸ y del momento de la exposición.²⁴⁸

Aunque hay una acusada variación en algunos parámetros del ritmo de aMT entre los distintos individuos, estos parámetros permanecen muy estables en el mismo individuo cuando son evaluados día a día.²⁰⁸

Por otra parte, se ha descrito que a lo largo de las 24 horas, existen “pulsos” de secreción de aMT, con un intervalo aproximado de una hora entre ellos. Tales pulsos se superponen al ritmo normal de secreción y son de amplitud suficiente para aumentar un 200% la concentración sérica. Además, se han descrito otros pulsos con una frecuencia de uno cada 10 minutos, que provocan un aumento del 35% en la concentración de melatonina. Para Birkeland²⁴⁹ los pulsos secretorios de aMT coinciden con los episodios de despertar espontáneo, mientras que la secreción mínima ocurre durante el sueño REM. No obstante, los pulsos secretorios de aMT no son aceptados por todos los autores.^{190, 250}

5.2. Ritmos menstruales y circanuales .-

Aunque la fluctuación día-noche es similar en ambos sexos, la secreción de aMT en la mujer experimenta cambios en relación al ciclo ovárico. Los niveles más bajos se producen en el momento de la ovulación, se incrementan en los días siguientes y sufren una disminución durante el final de la fase folicular; un segundo pico ocurre en el momento de la menstruación. No obstante, Birau²⁴² ha observado que la concentración máxima y mínima de aMT ocurre a la misma hora del día y que únicamente variará la cifra de aMT alcanzada en cada momento del ciclo menstrual. Para Berga,²⁵¹⁻²⁵² estos cambios menstruales en la concentración de melatonina no son necesarios para que el ciclo menstrual ocurra y son independientes de la fluctuación de los esteroides gonadales. Sin embargo, diversos autores²⁵³ han encontrado elevados niveles plasmáticos de melatonina en mujeres con amenorrea de origen hipotalámico; esto sugiere, junto a la observación de un ritmo circamenstrual y circanual en los niveles de aMT en el líquido folicular, que la melatonina puede estar involucrada en la regulación de la reproducción humana, tanto a nivel central (hipotálamo) como periférico (folicular).²⁵⁴

En adición al ritmo circamenstrual se ha encontrado un ritmo circanual en la secreción de aMT. Estimando los niveles séricos de aMT por la mañana, al medio día y por la noche en intervalos mensuales durante un año, se encuentra una variación estacional significativa, con valores más altos durante el invierno y verano y más bajos en primavera y otoño. Cuando se consideró entre las 12.00 y las 18.00 horas, hubo una variación estacional estadísticamente significativa, con picos en enero y julio.²⁵⁵

5.3. Edad, pubertad y niveles sanguíneos de melatonina .-

Se ha establecido que los niveles plasmáticos de aMT sufren un incremento desde el tercer mes de vida, encontrándose una variabilidad circadiana entre los niveles día-noche a los 3-9 meses.²⁵⁶ Gupta²⁵⁷ observó que, a partir del primer año de vida, se produce una disminución en el pico máximo nocturno de aMT; esta disminución guarda una relación directa con la edad ósea.

Para Waldhauser y cols.²⁵⁸ los niveles matutinos de melatonina son generalmente menores de 20 pg/ml y no cambian con la edad; sin embargo, los niveles medios nocturnos declinan con el aumento de la edad.²⁵⁹ Durante los seis primeros meses de vida, la concentración media nocturna de aMT fue de 27.3±5.4 pg/ml. En niños entre 1-3 años los niveles son de 339.5±42 pg/ml; entre los 3-11 años es de 133±17 pg/ml; en adultos jóvenes la concentración plasmática es de 46±6 pg/ml. Estos datos, referidos a los adultos, están de acuerdo con otros aparecidos en la literatura:^{190,260} 30-40 pg/ml durante el día y 40-150 pg/ml durante la noche.

Es decir, los niveles nocturnos de melatonina descienden un 75% durante la infancia. Durante las siguientes décadas, los niveles de aMT descienden moderadamente hasta los 70-90 años (29.2 ± 6.1).²⁵⁹ El descenso que ocurre en adultos podría explicarse por la degeneración en la glándula pineal conforme avanza la edad. No obstante, diversos estudios histológicos demuestran que la gliosis pineal y la presencia de calcificaciones apenas comprometen la celularidad.

Silman y cols.²⁶¹ encuentran un marcado descenso de la melatonina en escolares varones antes de que los primeros signos de pubertad se hagan visibles y de que se produzcan los incrementos de gonadotropinas y hormonas sexuales. Tal caída no se produce en chicas de igual edad, probablemente debido a que el desarrollo puberal se produce en ellas más precozmente.

A pesar de todo, es difícil interpretar las observaciones anteriores. La coincidencia entre la disminución de la concentración de melatonina y pubertad puede ser interpretada como un mecanismo causal, pero también como una coincidencia cronobiológica de ambos eventos.²⁶² En animales de experimentación el factor más importante en la modulación de la función pineal no es tanto el pico máximo, ni la cantidad total de aMT secretada durante la noche, ni la amplitud del ritmo circadiano, sino la duración de la elevación nocturna de la melatonina.

6. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA MELATONINA .-

Dentro de los descubrimientos de las funciones de la melatonina es la de antioxidante y barredor potente de radicales libres.²⁶³⁻²⁶⁴ Reiter,²⁶⁴⁻²⁶⁵ uno de los mayores investigadores de la melatonina, destaca la importancia de ésta como un potente neutralizador de radicales peróxido e hidroxilo (uno de los radicales más tóxicos); lo destaca como un estimulador de la enzima antioxidante glutatión peroxidasa. Neutraliza otros radicales como el oxígeno singlete, el óxido nítrico y el anión peroxinitrito. La melatonina estimula la guanilato ciclasa, el glutatión reductasa, la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la superóxido dismutasa. Otras observaciones destacan el efecto de la melatonina sobre la actividad de la ATPasa dependiente de calcio y magnesio en el músculo cardíaco, conociéndose como se inhibe la bomba de calcio en un ambiente rico en radicales libres.²⁶⁶ Su potencia antioxidante es cinco veces mayor que el glutatión y quince veces mayor que el manitol, comparados en un sistema in vitro.²⁶⁷

Otra de las acciones de esta hormona es la inhibición de la enzima peroxidativa responsable de la síntesis del óxido nítrico.^{264,268}

Si se reduce la melatonina, se produce una disminución de la actividad de la guanilato ciclasa disminuyendo el GMPc y aumentando el AMPc.²⁶⁹ Esto da lugar a niveles reducidos de antioxidante con las consecuencias esperadas, como serían los numerosos procesos degenerativos (rigidez de las membranas celulares entre otras), el acúmulo de radicales libres, el envejecimiento celular en definitiva.²⁶⁷

Existen estudios que intentan demostrar el efecto protector de la melatonina como antioxidante; este efecto de protección se va conociendo poco a poco, focalizándose un alto número de estos estudios en la membrana celular y en el fenómeno de fluidez de membrana. Se han realizado investigaciones del efecto antioxidante de la melatonina sobre membranas celulares de rata tras la

exposición férrica. Los resultados de dichos estudios concluyen que el efecto directo de la peroxidación lipídica en la membrana celular que sigue a la exposición férrica está notablemente reducido por la melatonina.²⁷⁰ Pero no solamente protege a los lípidos de la membrana, sino que protege al ADN nuclear frente a los radicales libres. La melatonina en definitiva es capaz de reducir el estrés oxidativo.

Disminuye el daño producido por sustancias tóxicas (paraquat, cianuro potásico, etc), por procesos de isquemia-reperfusión o frente a un ejercicio intenso, o en procesos degenerativos como el Alzheimer o Parkinson en donde se ve una reducción del daño neuronal.^{268,271} Dicho papel antioxidante, junto al papel inmunomodulador, lo hace importante en el trasplante de órganos.²⁷² Protege al ADN frente al daño producido por radiaciones ionizantes, y de los efectos frente a sustancias carcinogénicas. Todos estos efectos se deben en gran medida a sus propiedades de solubilidad lipídica tan alta y su moderada solubilidad acuosa, pudiendo actuar en todas las partes de la célula proclives a la lesión oxidativa.

De igual forma, la melatonina inhibe las lesiones a nivel de la mitocondria, promoviendo la producción de ATP. La melatonina está desprovista de efectos prooxidantes.²⁷¹ Se ha visto que por las características propias de la molécula de la melatonina, ésta no necesita siempre de un receptor para penetrar en la célula ni en los compartimentos subcelulares. En 1993, Benitz-King y Anto-Tay²⁷³ demuestran que la melatonina se liga a la calmodulina citosólica o proteínas tubulares,²⁷⁴ lo que justificaría algunos eventos intracelulares de dicha hormona en todas las células.

El beneficio clínico potencial de la melatonina como antioxidante es notable, sugiriendo que puede ser usado en el tratamiento de muchas enfermedades como el cáncer, la hipertensión, enfermedades pulmonares, y en un grupo de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer.²⁷⁵

En el año 2004, Gitto y cols.²⁷⁶ realizaron un estudio con niños a los que se les sometió a una intervención quirúrgica, previa administración de 10 mg/Kg de melatonina; posterior a la cirugía, se comprobó que se reducían agentes inflamatorios como la interleukina 6 y la interleukina 8 con respecto al grupo que no recibió la melatonina exógena. Este estudio concluye que la melatonina es un potente antioxidante con mejoras en los resultados clínicos, pero que hacen falta más estudios para investigar el papel de la melatonina en la cirugía.

7. PROTECCIÓN DEL ADN POR LA MELATONINA .-

Se realizaron estudios donde tras causar daño del ADN de las células hepáticas de ratas de experimentación mediante un agente carcinógeno como el safrol, se comprobaba una reducción del daño del ADN tras la exposición con melatonina a dosis fisiológicas en un 40%. Luego, los niveles fisiológicos de melatonina son suficientes para combatir el daño oxidativo debido a carcinógenos químicos tales como el safrol. El efecto protector y "luchador" frente a tales estímulos carcinógenos se deben al poder del barredor del radical libre más potente producido, el OH[•].

8. CONTROL DE LOS RITMOS CIRCADIANOS .-

Dado que vivimos en un mundo con una alternancia de luz y oscuridad, el día y la noche, la presencia de una periodicidad rítmica (circadiana) en multitud de fenómenos biológicos puede ser primariamente interpretada como una adaptación pasiva a la periodicidad ambiental.

Hace 250 años un astrónomo francés, Jean Jacques d'Ortous de Mairan,²⁷⁷ usó una planta heliotropa en la primera demostración de que los ritmos circadianos no son una mera adaptación al ambiente. Colocando la planta en un lugar cerrado y manteniéndola en condiciones de iluminación constante, seguía bajando y elevando sus hojas según un horario. Desde entonces se ha demostrado que la mayoría de los ciclos diarios de las plantas y animales persisten aún en condiciones ambientales constantes, lo que sugiere que son realmente endógenos en el organismo.

Los primeros estudios en seres humanos sobre los ritmos circadianos endógenos fueron realizados por Aschoff y Wever²⁷⁸ en los sótanos de un hospital de Munich, e independientemente, en una cueva subterránea de los Alpes franceses por Siffre.²⁷⁹ En estos ambientes, los sujetos fueron separados de claves horarias y del periodo de variación normal de la luz, temperatura y humedad. Bajo estas condiciones, los seres humanos mantenían una ritmicidad en el ciclo de descanso-actividad, temperatura corporal y otras variables cíclicas con un periodo de aproximadamente 25 horas; es decir, su generador circadiano se coloca fuera de fase con el ambiente externo y sus ritmos endógenos se retrasan cerca de una hora cada día con respecto a la hora del reloj.

Las variables cíclicas en sujetos mantenidos bajo condiciones constantes, dado el periodo distinto de 24 horas, persistentemente ganan o pierden tiempo respecto al ambiente (en estas condiciones se dice que su periodo está en "free-running") y se colocan fuera de fase con la alternancia del día y la noche del mundo exterior. Este periodo de aproximadamente 24 horas no corresponde a una imprecisión de los ritmos circadianos, sino más bien se piensa que es fundamental para mantener los ritmos endógenos en fase con el ritmo ambiental, ayudando a la adaptación a los cambios estacionales de la duración del día. El proceso mediante el cual los ritmos endógenos se ajustan a la periodicidad ambiental se denomina *entrenamiento* y las influencias externas que pueden efectuarlo se llaman "*zeitgebers*" o sincronizadores. Aunque multitud de variables ambientales cíclicas (temperatura, humedad, etc.) son capaces de actuar como sincronizadores, los cambios en la iluminación debidos a la alternancia diaria de luz y oscuridad son la clave fundamental por la que los ritmos endógenos ajustan su fase con los ciclos ambientales.

8.1. Organización del sistema circadiano por el núcleo supraquiasmático .-

En base a lo señalado anteriormente, Moore y Card²⁸⁰ propusieron el siguiente modelo de organización del sistema circadiano. El sistema contiene un "pacemaker" principal (el núcleo supraquiasmático) que tiene dos partes que funcionan como osciladores acoplados. Neuronas que contienen vasopresina y VIP proyectan principalmente dentro del núcleo, con sólo una proyección difusa dorsal que se dirige a la parte ventral del núcleo paraventricular; esta vía conecta el núcleo supraquiasmático con la glándula pineal, que es fundamental en el control del sistema circadiano.

8.2. Función de la glándula pineal en el entrenamiento de los ritmos circadianos. Melatonina como “zeitgeber” interno .-

8.2.1. Consecuencias de la pinealectomía sobre los ritmos circadianos .-

Se han realizado diversas experiencias para intentar demostrar el papel de la glándula pineal en el control de los ritmos circadianos. Entre ellas resultan interesantes aquellas consistentes en la extirpación de la glándula (pinealectomía, Px) y la observación posterior de las consecuencias que tiene ésta sobre la actividad rítmica.

Gorriones domésticos (*Passer domesticus*) mantenidos en condiciones de oscuridad constante (DD), perdían el ritmo de actividad locomotora tras la pinealectomía (Px).²⁸¹ Dado que bajo un ciclo luz-oscuridad (LD), el ritmo circadiano de la actividad locomotora persiste tras la Px, la pineal tendría algún papel en el control de los ritmos circadianos.

El efecto tan marcado de la Px en gorriones contrasta con su ausencia en las gallináceas. Por ejemplo, en la codorniz japonesa, la Px no produce ninguna alteración en el ritmo de actividad locomotora.²⁸²

Estos resultados contradictorios fueron interpretados por Ginner y Benzinger²⁸³ como diferencias cuantitativas, no cualitativas, en la organización circadiana entre especies. Propusieron un modelo en el que el sistema circadiano estaría compuesto por varios autoosciladores interconectados; el ritmo circadiano de melatonina sería el agente de sincronización entre los autoosciladores. Cuando las conexiones entre osciladores son débiles, como el gorrión, la Px produce una disrupción del ritmo; con conexiones más fuertes la Px perdería el efecto. Este modelo es atractivo aunque no debe cerrar las puertas a otras interpretaciones.

En ratas y bajo condiciones de luz-oscuridad (LD), la pinealectomía altera la relación de fase entre sueño paradójico y lento.²⁸⁴ También la pinealectomía produce una disociación en los ritmos enzimáticos del hígado y riñón de la rata.²⁸⁵ Si la Px produce una desincronización entre diversos ritmos (desincronización interna) quiere decir que juega un papel fundamental en este sentido y, de esta forma, su producto hormonal (la melatonina) sería un candidato para “zeitgeber” interno.

El hecho de que la Px no siempre produzca una desincronización interna puede ser explicado porque, además del ciclo luz-oscuridad, los ritmos pueden ser sincronizados por otras variables externas como son los periodos de alimentación en roedores y las claves sociales en humanos.

8.2.2. Desincronización externa y administración de melatonina .-

Otra vía para intentar establecer el papel de la glándula pineal en la sincronización de los ritmos circadianos, es la de producir una desincronización externa de éstos y apreciar el efecto que tiene la administración de melatonina (aMT) exógena. Bajo condiciones de LL o DD persiste el ritmo circadiano endógeno, pero con un periodo distinto de 24 horas (en este caso se dice que su

periodo está en “free-running”) y por lo tanto fuera de fase o desincronizado con el ciclo natural del día y la noche.

Redman²⁸⁶ administró melatonina subcutánea (1 mg/Kg) diariamente a ratas Long Evans encapuchadas (en condiciones DD) y, por lo tanto, con un ritmo de actividad locomotora en “free-running”. Observó que el principio de la fase activa se producía después de la inyección; tenía lugar un entrenamiento del ciclo actividad-descanso con la inyección de aMT. Curiosamente, la dosis de aMT sólo era efectiva dentro de un estrecho margen. Cuando se suspendieron las inyecciones, el periodo volvió a quedar en “free-running”; este periodo no siempre fue igual al que había previamente al tratamiento.

Cabe la posibilidad de que el entrenamiento producido por la inyección se debiera al estrés ocasionado por ésta. Ratones machos C57 BL en condiciones de DD, se sometieron a un estrés de inmovilización durante 30 minutos en algún momento del día. Este estrés no produjo el entrenamiento del ritmo de actividad. En consecuencia, es razonable concluir que el efecto de la inyección no se debió al estrés.

El entrenamiento tampoco puede ser atribuido a la interferencia en la síntesis o liberación aMT endógena, pues ratones pinealectomizados mantuvieron el entrenamiento del ciclo actividad-descanso por la inyección diaria de aMT.²⁸³

Por otra parte, Cassone²⁸⁷ demostró que tras producir lesiones bilaterales por radiofluorescencia en el núcleo supraquiasmático de la rata, desaparecerían los ritmos circadianos de actividad. De seis ratas con lesiones del núcleo supraquiasmático, en sólo una la melatonina produjo parcialmente un ritmo de actividad-descanso sincronizado al momento de la inyección; este efecto cesó tras suspender la administración. El análisis histológico de las ratas que respondieron demostró neuronas intactas a nivel del núcleo supraquiasmático. Este resultado es sugestivo de que la melatonina exógena actuaría a nivel del núcleo supraquiasmático para producir el entrenamiento, punto que se apoya por dos hechos:

- La inyección de melatonina marcada con I¹²⁵ localiza los sitios de unión en el hipotálamo y eminencia media;²⁸⁸ probablemente esta unión refleje una gran concentración de receptores.

- Cassone²⁸⁹ ha demostrado que la aMT exógena puede inhibir la actividad del núcleo supraquiasmático de la rata, cuando se administra dos horas antes del inicio de su noche subjetiva (periodo de actividad), pero no cuando se hace dos horas después. Es aproximadamente este el momento en que la melatonina entrena el ritmo de actividad y es capaz de inhibir la actividad del núcleo supraquiasmático.

En los animales de actividad diurna (*Starling vulgaris*) la liberación de melatonina se produce durante la fase de inactividad (por la noche). La inyección diaria de aMT exógena da lugar al entrenamiento del ritmo circadiano de actividad-descanso del *S. vulgaris*,²⁸³ pero tras la inyección hay inactivación y sueño. Por lo tanto, en la rata la inyección de melatonina produce una fase de actividad y en el *Starling* una fase de descanso. Todo esto indica que la aMT administrada exógenamente puede estar imitando el papel de la aMT endógena.²⁹⁰

El hecho de que la aMT exógena pueda reorganizar un ritmo circadiano, sugiere que puede actuar en la relación entre los osciladores. El que la aMT endógena también tenga un papel como agente sincronizador en mamíferos se desconoce, pero la idea está conforme para lo establecido en pájaros y reptiles²⁹¹.

9. MODELOS TEÓRICOS PARA LA ACCIÓN DE LA aMT .-

Aschoff²⁹⁰ (1960) propuso tres modelos para explicar la acción de la melatonina como sincronizadora de los ritmos circadianos.

Según el *modelo paramétrico o proporcional*, el entrenamiento se debería a la modulación continua de la velocidad angular del generador circadiano. De forma que cambios en la intensidad del “zeitgeber” producirían cambios proporcionales en el generador circadiano.²⁹² Sin embargo, el entrenamiento no sólo induce una aceleración igual en dos sistemas (zeitgeber y generador), también controla la fase de ambos, de forma que haya una diferencia o ángulo de fase estable entre ellos. Por otra parte, dado que el fenómeno del entrenamiento sigue la ley del “todo o nada” y la ventana de sensibilidad a la melatonina es muy reducida, es difícil aceptar la explicación paramétrica.

El modelo *no paramétrico o diferencial* se basa en el efecto producido por la alternancia de condiciones, tales como la luz y la oscuridad. El entrenamiento resulta del cambio abrupto de fase del oscilador; como ocurre al amanecer y en el crepúsculo.²⁹³ Así en los roedores nocturnos, la exposición a la luz durante su crepúsculo subjetivo retrasa la fase del ritmo de actividad locomotora, mientras que en el amanecer subjetivo la adelanta. Si bien este método asume los datos empíricos derivados de la exposición de ratones a la luz, no ocurre igual con los de la administración de aMT; dado que por una parte la melatonina sólo produce avance de fase cuando es administrada en el crepúsculo (en el amanecer no tiene efecto), y por otra no explica tampoco la estrecha ventana de sensibilidad.

Derivado del anterior ha surgido el *modelo de impulso*; existiendo dos fases con diferente efecto, sólo una de ellas es susceptible a una señal durante las 24 horas. Así, los roedores nocturnos (*M. auratus* y *Peromyscus leucopus*) o diurnos (*Amospermophilus leucurus*) mantenidos en condiciones de oscuridad constante (por tanto en “free-running”) pueden ser entrenados por un pulso de luz de 15 minutos de duración cada 24 horas.²⁹⁴⁻²⁹⁵ Para Armstrong,²⁹⁰ el modelo de impulso es el que mejor describe los resultados de la administración de melatonina exógena.

10. ADMINISTRACIÓN DE MELATONINA EN EL SER HUMANO .-

Los primeros trabajos señalaban su actividad como inductor del sueño; no obstante, las evidencias disponibles sugieren que participa en la regulación fisiológica del sueño, particularmente en la determinación de la fase del ritmo circadiano de éste.²⁹⁶ Posteriormente, se sugirió que la pineal podría funcionar como “órgano tranquilizante”, que ejercería una función sincronizadora,

estabilizadora y moderadora de las diversas funciones fisiológicas.²⁹⁷ En un intento de aclarar las posibles acciones fisiológicas de la melatonina, se han realizado experimentos en los que se administra de forma exógena.

En voluntarios humanos, la administración diaria durante un mes de 2 mgr de aMT a las 17.00 horas, adelantó el inicio de sensación de sueño nocturno; también adelantó el momento de secreción máxima de aMT endógena, pero no alteró la concentración ni el ritmo circadiano de LH, GH, T4, testosterona y cortisol.²⁹⁸ Estos autores sugieren que el uso de la melatonina exógena como hipnótico probablemente esté libre de efectos endocrinológicos adversos. Tiene el inconveniente de que se empleó una dosis a una hora determinada; no debemos olvidar que, en los animales, el efecto neto de la melatonina exógena puede ser muy diferente según el momento de la administración. No obstante, se sabe que la aMT es un potente inductor del sueño.²⁹⁹ Una dosis de 50 mgr vía intravenosa, administrada durante el día, es capaz de inducir el sueño en el lapso de 15-40 minutos y mantenerlo durante 20-60. Tras la administración nocturna, la aMT acorta de modo significativo el tiempo necesario para conciliar el sueño, sin modificar su duración total ni la proporción relativa de cada uno de los estadios. En el 70% de las personas se produjo sueño y en el resto una leve sensación de sedación o discreto cansancio. Aquellos que durmieron, manifestaron al despertar una sensación de bienestar físico y emocional.¹⁹⁰ Iguales efectos se consiguen con dosis intranasales.

Quizá el efecto más importante de la melatonina exógena y que puede dar más luz sobre su acción fisiológica, es su papel de la sincronización de los ritmos circadianos, pues se le ha definido como un potente *reloj biológico* (sustancia capaz de restaurar el ritmo circadiano disociado o desincronizado y de prevenir profilácticamente su disrupción por un insulto ambiental).

Astronautas, submarinistas, exploradores polares y algunos ciegos, pueden padecer una desincronización de sus ritmos circadianos, al estar en unas condiciones ambientales constantes respecto a la iluminación (aunque los astronautas se someten a ciclos artificiales de LD, la intensidad de luz no es suficiente para el entrenamiento). Así, aunque algunas personas ciegas pueden sincronizar sus ritmos mediante otras claves (principalmente sociales), otras no pueden mantener sus ciclos diarios sincronizados al día normal de 24 horas; principalmente el ciclo sueño-vigilia y de melatonina. Estas personas mantienen su ciclo de sueño-vigilia con un periodo de "free-running" cuya duración es mayor de 24 horas y los coloca fuera de fase con el mundo exterior. Arendt y cols.²⁵⁵ han demostrado que un hombre ciego mantenía un ritmo de sueño-vigilia fuera de fase con el mundo exterior, entraba en fase con éste cuando tomaba melatonina y volvía a desincronizarse cuando la suspendía. No obstante, el tratamiento no fue capaz de sincronizar el ritmo de melatonina endógena aunque sí lo midificó.

11. LA MELATONINA COMO "ZEITGEBER" INTERNO .-

El núcleo supraquiasmático (SCN) juega un papel fundamental en la generación de los ritmos circadianos en los mamíferos. Ahora bien, conocido esto se nos plantea la cuestión de cómo señala el SCN la periodicidad de todas las variables que siguen un ritmo circadiano a los diversos órganos del cuerpo. Las dos vías obvias son las del sistema nervioso y el endocrino.

La melatonina es un candidato a mensajero químico circadiano: presenta buena permeabilidad en todos los tejidos y órganos del cuerpo,¹⁶⁹ es liberada

durante la noche independientemente de que el mamífero sea de actividad diurna o nocturna. Su síntesis y liberación están controladas por el SCN,³⁰⁰ siendo un reflejo fiel de las oscilaciones de éste durante el amanecer y el crepúsculo (aunque el SCN sea activo durante el día, la melatonina se libera durante la noche). Por tanto la glándula pineal, aunque separada anatómicamente, puede ser considerada como parte integrante del SCN desde el punto de vista funcional.²⁹⁰

Los resultados de estudios de pinealectomía y de administración de melatonina a ratas de laboratorio bajo condiciones de desincronización externa, desincronización interna y cambios de fase del generador, han posibilitado desarrollar la hipótesis de que la melatonina sincronizaría la multitud de variables periódicas de células, tejidos y órganos del medio interno. El papel jugado por la melatonina en el medio interno sería similar al de la luz en el externo,²⁹⁰ de ahí el término de “zeitgeber” interno,³⁰¹⁻³⁰² puesto que la liberación periódica de melatonina prevendría potenciales desincronizaciones entre los ritmos endógenos.

Independientemente de si la melatonina endógena cumple un papel de “zeitgeber” interno, está claro que la administración de aMT exógena a dosis farmacológicas parece actuar como un poderoso reloj biológico. La melatonina tiene un potencial como agente profiláctico o terapéutico para estabilizar o restablecer los ritmos internos dañados y prevenir las enfermedades que pueden ser consecuencia de estos desórdenes.

12. EL SISTEMA CIRCADIANO Y FOTOPERIÓDICO .-

La medición de la duración del día es una función del sistema circadiano. La investigación experimental de la respuesta fotoperiódica ha demostrado la existencia de un ritmo de sensibilidad a la presencia de luz.³⁰³ El principio es que el periodo inicial de la luz (amanecer) entrena un ritmo de sensibilidad a la luz, de forma que si un segundo pulso de luz (o la continuación del primero) se produce sobre esa fase sensible a la luz (o ventana) que ocurre más tarde en el día, se producirá una respuesta neuroendocrina adecuada. Por ejemplo, los hamsters tienen un intervalo crítico fotosensible de aproximadamente 12 horas, centrado alrededor de la media noche, cuando están entrenados al ritmo ambiental de luz-oscuridad.³⁰⁴⁻³⁰⁵ La exposición a la luz durante el intervalo fotosensible, como ocurre en los días largos del verano, conduce al crecimiento gonadal. La ausencia de luz en aquel periodo determina la regresión de las gónadas.

Dos posibles mecanismos tratan de explicar estos fenómenos.^{303, 305} En el primero, o *modelo de coincidencia externa*, la luz del amanecer entrena un ritmo endógeno de sensibilidad. Si la luz cae dentro de esa fase, es leída como una señal del día largo; la ausencia de luz en dicha fase se entiende como un día corto. Un modelo alternativo es el de *coincidencia interna*, en el que la luz alteraría la relación entre las fases de dos osciladores circadianos acoplados. Este modelo se basa en los estudios de Illnerova de cómo la luz afecta a la N-acetiltransferasa (NAT) pineal.³⁰⁶ Postula la existencia de dos osciladores (en la mañana y el atardecer) que controlan de forma coordinada el momento de la elevación nocturna y la caída posterior de la melatonina; la fase de relación entre ambos es leída como la señal fotoperiódica.

13. LA GLÁNDULA PINEAL Y EL FOTOPERIODO .-

Aunque la glándula pineal puede producir muchas sustancias, la más intensamente estudiada ha sido la melatonina. La propiedad crucial de dicha sustancia parece ser un modelo nocturno de producción. La pineal sintetiza y libera melatonina sólo durante la oscuridad.²⁰¹ Esto explica el porqué fracasaron los primeros experimentos donde se daba melatonina exógena de forma continua. La melatonina debe ser administrada de forma fásica para que sea eficaz. Una inyección de melatonina administrada diariamente por la tarde, a un hamster colocado en un fotoperiodo con una duración larga del día (periodo de luz del ciclo luz-oscuridad), cambia la interpretación del fotoperiodo que es leído como de una duración corta. Las inyecciones administradas en otros momentos son ineficaces³⁰⁷⁻³⁰⁹ Por lo tanto, parece que el papel de la melatonina es ser la señal del “día corto”.

Otro problema es el concerniente a como el animal interpreta la señal pineal. Existen dos hipótesis. La primera o *hipótesis de duración*, se basa en el hecho de que los cambios en el fotoperiodo alteran la duración de la elevación diaria de la melatonina y esta señal es leída como de duración del día. La segunda o *hipótesis de fase* (también llamada de coincidencia), consiste en la sincronización de los elevados niveles de melatonina con la sensibilidad de un sistema particular. Cuando esto ocurre, el organismo responde de forma adecuada.¹⁸⁴ En la primera hipótesis la duración de la elevación de la melatonina determina “per se” la respuesta, mientras en la segunda depende de la sensibilidad del órgano diana. Para Reiter,¹⁸⁴ el organismo probablemente usa una combinación de ambos modelos.

14. MELATONINA Y EMBARAZO .-

14.1. Melatonina durante el embarazo y el parto .-

Durante el embarazo la pineal experimenta cambios morfológicos (aumento de tamaño, mayor incidencia de calcificaciones pineales), ultraestructurales (mayor número de células “oscuras”, cintas sinápticas y modificaciones de las organelas) y endocrinológicos (cambios en los niveles plasmáticos de aMT).³¹⁰ Se ha descrito un aumento de los niveles plasmáticos de aMT durante el embarazo.³¹¹ Otros autores³¹² encuentran alteraciones del ritmo circadiano, con los niveles mínimos de aMT en mujeres gestantes entre las 14.00 y las 20.00 horas (23-30 pg/ml) y los valores máximos entre las 02.00 y las 08.00 horas (67-91 pg/ml); pero a diferencia de otras edades, los niveles entre las 08.00 y las 14.00 horas son equivalentes a los nocturnos (64-86 pg/ml).

En el año 2000, Okatani y cols.³¹³ realizaron un estudio para investigar si la administración de melatonina a ratas embarazadas, podía proteger el cerebro del feto del daño inducido por los radicales libres. Se les administró 10 mg/Kg en la semana 20 de gestación a las 14.00 horas; posteriormente midieron la concentración de melatonina en el suero materno y en el cerebro fetal y determinaron la actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GSH-Px) en el cerebro del feto. A la hora de la administración exógena de melatonina, se observó el pico más alto de melatonina en el suero materno y en el cerebro del feto; a las 2-3 horas de dicha administración, se alcanzó la mayor actividad de las enzimas anteriormente citadas. Estos resultados indican que la administración de melatonina a la madre, aumenta la actividad de enzimas antioxidantes en el cerebro del feto y, por lo tanto,

proporciona de forma indirecta protección frente al daño causado por los radicales libres. Así, la melatonina podría ser útil en el tratamiento de condiciones que implican un exceso de radicales libres, tales como la hipoxia fetal y la preeclampsia.

Se ha demostrado que durante **el parto**, ocurren cambios significativos en la concentración de melatonina en la circulación materna y fetal. Según Mitchell y cols.,³¹⁴ la concentración de aMT en el líquido amniótico es mayor durante el parto a término de inicio espontáneo (262 pg/ml) que en el caso del parto inducido (190 pg/ml). Este mismo autor³¹⁵ encuentra que, aunque la concentración de melatonina al final del embarazo era similar a la de las mujeres no gestantes, se producía una elevación durante el parto a término y pretérmino (sólo significativa en el parto a término). Si estos cambios son una causa o una consecuencia del parto está por determinar, aunque pudieran deberse al efecto que tiene el estrés sobre la síntesis de aMT.

Para otros autores,³¹⁶ los cambios observados en los niveles maternos de aMT durante el parto reflejarían simplemente el normal ritmo circadiano en la concentración de dicha hormona (en el trabajo de Mitchell no se determina el momento del día en que se tomaron las muestras). Lang³¹² afirma que no existen diferencias entre las concentraciones de aMT de procedencia materna (59.7 ± 7.2) y las obtenidas en arteria umbilical (72.6 ± 10.9); tampoco encuentra diferencias entre los partos por cesárea y los que siguen la vía vaginal.

Mientras Evans y cols.³¹⁷ encuentran un ritmo circadiano de aMT en sangre de cordón (mezcla de sangre venosa y arterial), Vicente y cols.³¹⁸ afirman que, aunque se detectan cantidades significativas de aMT en sangre de cordón, no se aprecia un ritmo circadiano. Rodríguez³¹⁹ ha encontrado una variación rítmica circadiana de la concentración de melatonina tanto en arteria como en vena umbilical, con valores claramente superiores en la segunda. Además, encuentra niveles más elevados en el caso de sufrimiento fetal agudo, lo que está en consonancia con la pretendida actividad antiestrés de la melatonina.

14.1.1. Desarrollo del ritmo circadiano de melatonina en el embarazo .-

Diversos autores³²⁰⁻³²¹ han señalado la presencia del ritmo circadiano en la concentración plasmática de melatonina, tanto en ovejas embarazadas como en sus fetos en el último trimestre de la gestación. El ritmo en el feto es menos intenso y está retrasado de 0.5 a 1.5 horas respecto al de la madre.³²⁰ Dado que es capaz de atravesar la placenta, la melatonina presente en la circulación fetal puede ser de origen materno o derivar tanto de la madre como del feto.³²¹

McMillen y Nowak³²² han demostrado que la pinealectomía materna suprime el ritmo circadiano de la concentración plasmática de melatonina en las madres y sus fetos. Por lo tanto, el ritmo circadiano fetal es un reflejo del materno. No obstante, como la pinealectomía materna no consigue suprimir toda la melatonina del plasma materno y fetal, la pineal del feto debe ser activa en ese momento de la gestación. Posteriormente, Nowak y cols.³²³ han encontrado que no aparece un ritmo circadiano claro en la concentración plasmática de melatonina hasta las 3-4 semanas de vida del carnero.

En la especie humana, Atanasio y cols.²⁵⁶ han observado una diferencia significativa entre los niveles de serotonina diurnos y nocturnos desde el nacimiento. Este ritmo aparece entre el primer y tercer mes de vida para la N-

acetilserotonina, mientras la melatonina presenta una variabilidad significativa bastante más tarde. Para Gupta²⁵⁷ el ritmo circadiano de melatonina sólo estará bien establecido (en el hamster y la rata) alrededor del final del primer año de vida.

Klein y cols.³²⁴ encuentran ritmo circadiano de actividad de NAT al final de la primera semana de vida y de HIOMT a partir de la segunda semana; lo que indica un ritmo circadiano de aMT desde esos momentos.

14.2. Melatonina y recién nacido .-

Desde que se descubrió el papel antioxidante de la melatonina en 1993 por Tan y cols.,³²⁵ se han realizado muchos estudios en multitud de situaciones, muchas de ellas con especial relevancia clínica. Se ha comprobado que reduce la toxicidad de algunas drogas y, en algunos casos, aumenta su eficacia³²⁶ para reducir la severidad del tejido que sigue a la isquemia/reperusión en el cerebro.³²⁷

En el año 2001, Gitto y cols.³²⁸ utilizaron con éxito la melatonina en el tratamiento del shock séptico en recién nacidos pretérmino. Veinte recién nacidos sépticos se aleatorizaron en dos grupos de 10 pacientes cada uno. En un grupo se utilizó la terapia antibiótica convencional, y en el otro grupo se utilizó el tratamiento antibiótico junto con 2 dosis de 10 mg de melatonina por vía oral separadas por una hora. En una hora e incluso cuatro horas tras la administración de esta hormona, el nivel de los productos de la peroxidación lipídica se encontraban más bajos con respecto a los de los niños no tratados con la melatonina. Además, durante las 72 horas posteriores a la administración de la melatonina, todos los parámetros clínicos mejoraron significativamente y no se produjo la muerte de ninguno de ellos; de los no tratados con melatonina murieron tres. Gitto atribuye estas acciones de la melatonina a sus propiedades antioxidantes, aunque deben existir otras propiedades aún por descubrir que permita a los niños la rápida mejoría clínica y analítica. De este estudio podemos concluir que, aparentemente el uso de la melatonina se justifica en el tratamiento de esta patología, tanto en niños como en adultos, sean cuales sean los mecanismos por los que esta hormona ejerce su acción.

Existe una gran cantidad de situaciones en el neonato que están asociadas a una elevación del estrés oxidativo.³²⁸ Considerando la alta eficacia y la baja toxicidad de la melatonina en estas situaciones y estimulado por el éxito del uso de la melatonina en el estudio anteriormente comentado, Fulia y cols.³²⁹ usaron la melatonina para el tratamiento de neonatos con asfixia transitoria, puesto que el estrés oxidativo se ha implicado en la fisiopatología de la asfixia neonatal. El estudio se realizó con 20 neonatos con asfixia perinatal, diagnosticada en las 6 primeras horas tras el nacimiento. Diez de ellos fueron tratados con 80 mg de melatonina por vía oral; posteriormente se observó en este grupo que los niveles de malondialdehído (un producto de la peroxidación lipídica) y la concentración de nitrito/nitrato, eran significativamente más bajas que en aquellos neonatos no tratados con melatonina y con asfixia neonatal. Asimismo, la mejoría clínica fue mucho más rápida en los neonatos tratados con melatonina y todos sobrevivieron. Fallecieron tres neonatos del grupo de los no tratados con esta hormona.

El estrés oxidativo también se ha relacionado con el Síndrome del Distrés Respiratorio (SDR) y sus complicaciones. Así, parece que tratar con melatonina a

los niños con esta afección es una buena medida. Se realizó un estudio con dos grupos de neonatos afectados del SDR. El primer grupo constaba de 40 recién nacidos, a los que se les administró 100 mg de melatonina de forma intravenosa por un periodo de dos días; el segundo grupo estaba constituido por 34 niños tratados con la pauta convencional. A las 24 y 72 horas y 7 días tras la administración de melatonina, los niveles de interleukina 6 (IL-6), interleukina 8 (IL-8), factor de necrosis tumoral y la concentración de nitrato/nitrito, fueron significativamente más bajos en el grupo de los tratados con melatonina.³³⁰ Claramente, el tratamiento con melatonina mejora los resultados de los neonatos con SDR, mediante una disminución de los parámetros oxidativos e inflamatorios relacionados con esta afección.

14.3. Melatonina y cordón umbilical .-

En 1979 Mitchell y cols.,³¹⁵ observaron que las concentraciones en el cordón umbilical fueron significativamente mayores que en el plasma materno durante el parto. Por otra parte, los niveles fueron significativamente superiores en la vena que en la arteria umbilical durante el parto vaginal, ocurriendo lo contrario durante la cesárea (niveles superiores en la arteria umbilical). Este cambio se debió a la disminución de los niveles arteriales umbilicales durante el parto vaginal, mientras que los venosos se mantuvieron estables. Las altas concentraciones relativas de aMT en el cordón umbilical junto con el cambio en las diferencias arterio-venosas con el tipo de parto, sugieren que la pineal es activa en el feto y es capaz de responder durante el parto; la mayor concentración en arteria umbilical durante la cesárea podría explicarse por la misma acción de la intervención quirúrgica (quizás la anestesia).

En 1989, se realizó un estudio en España por Vicente y cols.,³³¹ para determinar si la melatonina circulaba en el cordón umbilical de recién nacidos sanos y si la concentración de esta hormona seguía un ritmo circadiano al nacimiento. Se demostró que la melatonina estaba presente en niveles altos, que podrían ser, al menos en parte, de origen materno. Estos resultados también sugerían la ausencia de ritmo circadiano de la melatonina en recién nacidos humanos, que podría reflejar la inmadurez de los componentes relacionados con la síntesis de la melatonina.

En 1992, Muñoz-Hoyos y cols.³³² estudiaron 112 neonatos divididos en 3 grupos: recién nacidos a término, pretérmino y neonatos con distrés respiratorio. Se midió el nivel de melatonina en la arteria y vena umbilical en el momento del nacimiento, sin que hubiese prácticamente diferencias en la concentración de esta hormona, observándose un ritmo diurno en todos los grupos. El nivel nocturno de melatonina fue más elevado en el grupo de los niños con distrés respiratorio, en comparación con los otros dos grupos. Estos resultados sugieren, en primer lugar, que en los neonatos existe un ritmo en la secreción de melatonina, aunque no se pudo determinar si este ritmo era de la madre o del feto; en segundo lugar, los neonatos con distrés respiratorio presentaban un aumento en la producción nocturna de melatonina, en comparación con los recién nacidos a término y los pretérmino sin distrés.

En 1993, este mismo autor y sus colaboradores realizaron otro estudio en 119 neonatos normales y a término, para determinar si el ritmo circadiano de la melatonina descrito en sangre de cordón umbilical, era debido a la actividad en la glándula pineal del feto. Se hicieron dos grupos divididos en dos periodos, de las 09.00 a las 21.00 y de las 21.00 a las 09.00. No se encontraron diferencias entre

los dos grupos en la concentración de melatonina. Los resultados obtenidos sugieren que la glándula pineal del feto secreta melatonina, pero no de una manera rítmica, lo cual implica que el ritmo circadiano de esta hormona descrito previamente en sangre de cordón umbilical, era reflejo del ritmo de la madre.³³³

14.4. Melatonina y placenta .-

Se cree que el término placenta fue introducido en 1559 por Realdus Columbus, quien usó la palabra latina para una torta circular. En 1937, Mossman definió la placenta como la porción de las membranas fetales que estaba en yuxtaposición a la mucosa uterina, o fusionada con ésta.

Se cree que Aristóteles (384-322 a.C.) fue el primero en usar la palabra corion. Chori significa separado, distinto. Sin embargo, no fue hasta comienzos del siglo XVI, una época de renacimiento en la anatomía, que se dieron opiniones en cuanto a la función placentaria. Leonardo da Vinci (1452-1519) y Vesalio (1514-1564) ilustraron la placenta humana de forma incorrecta. En 1555 Vesalio corrigió su error en la segunda edición de su libro.

Sólo a mediados del siglo XIX se comprendió la verdadera naturaleza de las vellosidades coriónicas. En 1882, Langhans realizó una verdadera contribución al demostrar con claridad que las vellosidades coriónicas estaban recubiertas por dos capas de células. De hecho, la capa interna de células, el citotrofoblasto, que reviste el espacio intervelloso, se denomina células de Langhans; La capa superficial de las vellosidades coriónicas se denomina sincitiotrofoblasto.

La placenta tiene dos grandes funciones: la producción endocrina y el intercambio fetomaterno, el cual ocurre a través de una membrana formada por el trofoblasto y su membrana basal, el tejido conjuntivo y el endotelio de los vasos de la vellosidad corial y su membrana basal.

En la placenta se evidencia además actividad metabólica y endocrina, que contribuye de forma decisiva al mantenimiento de la gestación.³³⁴ Por otra parte, se puede considerar origen de importantes modificaciones hemorreológicas en la gestante, tanto en situaciones fisiológicas como patológicas.

En el año 2001, Okatani y cols.³³⁵ observaron el poder antioxidante de la melatonina, induciendo alteraciones en las mitocondrias de la placenta. En ratas embarazadas de 19 días, se indujo una isquemia en la placenta y en el feto mediante la oclusión de las arterias uterinas durante 20 minutos. Tras medir diferentes parámetros, sus autores concluyeron que la melatonina protege contra el estrés oxidativo y que podría ser útil en el tratamiento de la preeclampsia y de otros estados patológicos relacionados con el estrés oxidativo, como son el crecimiento intrauterino retardado y la hipoxia fetal.

15. PREMATURIDAD Y ENFERMEDADES DEL RECIÉN NACIDO QUE GUARDAN RELACIÓN CON EL ESTRÉS OXIDATIVO .-

Se sabe que el recién nacido es capaz de reaccionar y eliminar el estrés oxidativo en las primeras horas de vida, siendo lógico pensar que la evolución prepara al feto para poder soportar un trabajo de parto y un parto normal, dando por resultado un binomio de madre-hijo saludable en casi todas las situaciones. Para conseguir este fin, es necesario que todos los factores implicados en el desarrollo de la gestación y en el parto se desarrollen con normalidad. Cualquier

anormalidad puede dar lugar a un incremento en la producción de radicales libres y/o una disminución en los niveles antioxidantes del recién nacido, instaurándose un estrés oxidativo de mayor grado o mayor duración que puede tener importantes repercusiones en la salud del recién nacido; entre estas anormalidades se encuentra el parto pretérmino o prematuridad.

15.1. Prematuridad y estrés oxidativo .-

La prematuridad, es decir, el nacimiento antes de la semana 37 de gestación, puede ser considerada en muchos casos como una situación de alto riesgo desde el punto de vista oxidativo, siendo su riesgo mayor cuanto menor es la edad gestacional y/o el peso del recién nacido. Así, algunos autores consideran la prematuridad, por sí misma, como una enfermedad con un alto componente oxidativo.³³⁶

Por un lado, nos encontramos que el recién nacido pretérmino tiene un sistema de defensa antioxidante inmaduro o no totalmente completo. Esto es lógico, si pensamos que existe una preparación del sistema antioxidante del feto para el parto, observándose que la maduración del sistema antioxidante enzimático sufre una maduración paralela a la gestación y que algunos antioxidantes no enzimáticos, como la vitamina E y el retinol, son cedidos al feto por la madre a través de la placenta de un modo preferente al final de la gestación. Esta hipótesis aún presenta pequeñas contradicciones, ya que para algunos autores, el sistema de defensa antioxidante del recién nacido pretérmino es completamente funcional y no diferente al presentado por el neonato a término, sobre todo en lo referente a los antioxidantes enzimáticos. Realmente, parece depender del antioxidante estudiado, órgano objeto de estudio, edad gestacional y peso de los recién nacidos estudiados y la presencia o no de patologías.

En general y en base a los resultados obtenidos en la mayoría de los estudios, se puede decir que el pretérmino presenta una defensa antioxidativa total menor a la que presenta el recién nacido a término. Este sistema antioxidante no parece mejorar de manera destacable en los primeros días de vida.³³⁶

Los mecanismos productores de radicales libres también actúan durante el parto pretérmino, en igual o mayor medida a como lo hacen en un parto a término, dependiendo a veces de los mecanismos desencadenantes de esta prematuridad, lo cual daría una producción de radicales libres mayor o igual a la encontrada en el recién nacido a término.³³⁶

Estudios en ratas muestran que los recién nacidos son más resistentes a la toxicidad del oxígeno que los adultos, en parte debido a su capacidad para incrementar la actividad de los enzimas antioxidantes del pulmón tras la exposición hiperóxica, sin embargo esta capacidad no fue mostrada por los neonatos pretérmino.

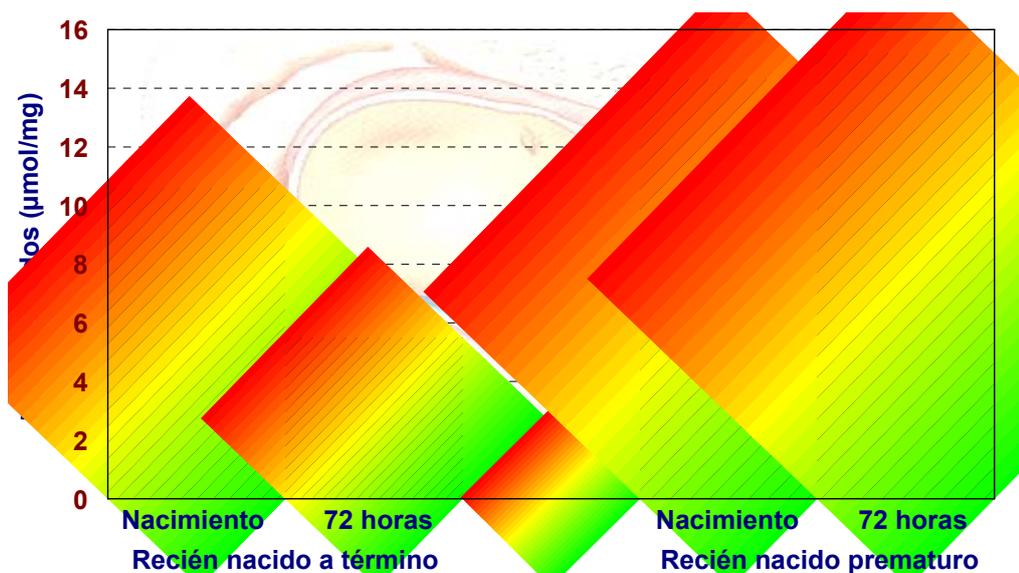


Figura 1. Contenido de hidropéroxidos al nacimiento y a las primeras 72 horas de vida en membrana de eritrocito de recién nacido a término y prematuro (Ochoa y cols, 2003).

En definitiva, la menor capacidad defensiva de su sistema antioxidante y la mayor o igual producción de radicales libres, hace que la situación de estrés oxidativo instaurada en el recién nacido pretérmino, sea mayor que la encontrada en el recién nacido a término; incluso que no sea capaz de eliminar esta situación de estrés en sus primeras horas de vida, por lo que la duración de este estrés oxidativo es mayor. La Figura 1 muestra lo comentado anteriormente.

A los dos aspectos comentados anteriormente sobre el neonato pretérmino, se une el hecho de que éste presenta órganos y tejidos inmaduros, por lo que son más susceptibles al ataque de los radicales libres.

Es importante considerar las propias técnicas de resucitación y soporte aplicadas en los hospitales tras el nacimiento de un neonato pretérmino, las cuales si bien han incrementado enormemente la supervivencia de estos recién nacidos (especialmente de aquellos de muy bajo peso y edad gestacional), pueden dar lugar a complicaciones posteriores. Así, muchos recién nacidos requieren administración de oxígeno como una terapia común y necesaria para la insuficiencia respiratoria. Sin embargo, altas concentraciones de oxígeno son tóxicas y exposiciones prolongadas a estas concentraciones puede provocar daños de gran repercusión.

En base a lo anteriormente expuesto, se ha observado que las especies reactivas del oxígeno y los radicales libres, en general se han visto implicados en numerosas enfermedades tanto del feto como del recién nacido, sobre todo en los de muy bajo peso al nacer. La liberación de las especies reactivas del oxígeno juega un papel muy importante en la anemia hemolítica, displasia broncopulmonar, retinopatía del prematuro (o fibroplasia retrolental), hemorragia intraventricular y en la enterocolitis necrótica.

La causa común de estas enfermedades con diversa expresividad clínica, parece estar relacionada con una lesión de las células endoteliales de los vasos capilares, que va a determinar un daño con posterior isquemia, hemorragia y necrosis. En el caso del neonato pretérmino, estas células son más frágiles y más susceptibles al daño oxidativo.

15.2. Displasia broncopulmonar y estrés oxidativo .-

La displasia broncopulmonar es un patrón de enfermedad crónica pulmonar observada en recién nacidos pretérmino sujetos a ventilación mecánica.

Se trata de una patología que ha ido adquiriendo mayor relevancia conforme se lograban mayores supervivencias, gracias a la aplicación de nuevos tratamientos al recién nacido pretérmino. Desde que la supervivencia de niños extremadamente prematuros ha ido incrementándose a lo largo de los años, el número de pequeños que desarrollaban esta enfermedad también se incrementaba. Se ha estimado que entre el 20 y 45% de neonatos nacidos antes de la semana 32 de gestación desarrollaban esta condición.

Esta patología permanece como una de las mayores causas de mortalidad y morbilidad del niño, a pesar de los avances recientes en el cuidado intensivo del neonato.

Las causas de la displasia broncopulmonar son multifactoriales, siendo las más importantes la inmadurez pulmonar, hipoxia, barotrauma (por la necesidad de ventilación mecánica), la oxigenoterapia, la inflamación e infección.

Así, el estrés oxidativo se ha convertido en un componente crítico de los procesos de daño agudo que desencadenan la aparición de la displasia broncopulmonar. Entre los efectos tóxicos pulmonares mediados o producidos por los radicales libres se incluyen: inhibición de la síntesis de surfactante (vital para una ventilación pulmonar correcta), citotoxicidad sobre las células endoteliales, epiteliales y sobre los macrófagos alveolares (necesarios para evitar infecciones pulmonares), inhibición de la respuesta vascular pulmonar frente a la hipoxia, inhibición de la reparación pulmonar normal, que origina alteraciones en la ubicación del colágeno y desarrollo pulmonar anómalo con resultado de menor alveolización.

En animales se ha observado que al cesar la administración de oxígeno, existe una mejoría rápida del edema alveolar e intersticial y de la histología pulmonar, mostrándose la relación entre la patología y el tiempo de exposición al oxígeno.

En el año 2004, Gitto y cols.³³⁷ estudiaron el efecto de la administración de melatonina en recién nacidos pretérmino con síndrome de distrés respiratorio. Observaron que los niños que no habían sido tratados con melatonina, presentaban niveles de interleukina 6, interleukina 8 y factor de necrosis tumoral significativamente más altos, junto con un aumento de duración de dicho síndrome.

15.3. Fibroplasia retrolental y estrés oxidativo .-

La primera evidencia de la relación entre la toxicidad del oxígeno y las enfermedades neonatales, emergieron cuando la retinopatía fue observada en neonatos prematuros que respiraban altas concentraciones de oxígeno. Así, al inicio de la utilización del oxígeno como terapia en prematuros y debido a la ausencia de adecuada tecnología para estudiar daños de tejidos por oxigenación, el número de niños que perdieron la vista fue bastante elevado antes de que se relacionara el tratamiento con oxígeno con el daño en la retina. Se estableció entonces, que no debían superarse concentraciones de oxígeno superiores al 40% en el soporte ventilatorio de los pretérmino.

Aunque los factores implicados en su desarrollo son muy variados, la edad gestacional, la intensidad y la duración de la exposición a la oxigenoterapia parecen ser los más determinantes para su desarrollo.

Hay que indicar que la retina es un tejido neuronal muy rico en ácidos grasos poliinsaturados (mayor susceptibilidad a sufrir peroxidación lipídica), oxígeno y mitocondrias, presentando una tasa de consumo de oxígeno muy elevada, mayor que cualquier otro órgano o tejido, por lo que es un tejido idóneo para el ataque de radicales libres. Estos radicales deben ser controlados por el sistema de defensa antioxidante, el cual se encuentra deprimido en el prematuro, a lo cual se unen las altas concentraciones de oxígeno (oxigenoterapia), inflamación y periodos de isquemia-reperusión.³³⁸

La incidencia de esta patología ha disminuido drásticamente, estando casi relegada a los grandes prematuros, con peso inferior a 1000 gramos. El uso de vitamina E para la prevención de esta patología se ha aplicado con resultados poco concluyentes.³³⁹

15.4. Enterocolitis necrotizante y estrés oxidativo .-

Se trata de un desorden neonatal de causa desconocida y caracterizado por una rápida necrosis del intestino, especialmente del íleon y colon. No existe una hipótesis unificadora probada que explique el origen de esta enfermedad, aunque puede ser el resultado de una interacción compleja entre una lesión de la mucosa causada por diversos factores (isquémicos, infecciosos, intraluminales) y la respuesta a esta lesión (circulatoria, inmunitaria, inflamatoria).

Durante la fase de reperusión, tras la isquemia intestinal, se generan gran cantidad de radicales libres a partir de dos fuentes principales: la xantina-oxidasa y los neutrófilos activados. La acción de estos radicales daña el colágeno y la membrana de la mucosa basal, lo que implica un aumento de la permeabilidad capilar, edema, degeneración, daño celular y finalmente necrosis.

15.5. Hemorragia intraventricular y estrés oxidativo .-

Es el hallazgo más común en el cerebro de los niños prematuros fallecidos en la primera semana de vida. Experimentos realizados en animales, muestran que el daño cerebral empieza desde el momento de la falta de irrigación (isquemia) y empeora en el transcurso de la nueva irrigación (perfusión). Incluye daño en la microvasculatura, mediada en gran parte por radicales libres, factores derivados de las células endoteliales y neutrófilos.³⁴⁰⁻³⁴³

III. LÍPIDOS Y EMBARAZO

El balance energético a través de la gestación, depende de la estrecha relación madre-placenta-feto mediada por hormonas, garantizando la conservación de energía y el adecuado aprovechamiento de nutrientes, siendo los lípidos de capital importancia en el desarrollo fetal.³⁴⁴

Los lípidos y las lipoproteínas plasmáticas aumentan en el embarazo. Se produce un aumento gradual de los niveles de triacilglicéridos (TAG) que llega a ser de dos a tres veces, de forma que al final del embarazo son normales niveles de 200 mg/dL a 300 mg/dL, los cuales tienen como función principal la preparación de la madre para la futura lactancia postparto.³⁴⁴⁻³⁴⁵

Los niveles de colesterol total y de lipoproteínas de baja densidad (LDL) también son más elevados, de forma que al final del embarazo hay un aumento del 50% al 60% de los valores previos al embarazo. Los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) inicialmente aumentan en la primera mitad del embarazo, y después disminuyen en la segunda mitad. Al final del embarazo, las concentraciones de HDL son 15% más elevadas que antes del embarazo.³⁴⁴⁻³⁴⁵

Tanto el colesterol como los triacilglicéridos vuelven a la normalidad a las seis semanas después del parto. No se conocen completamente los mecanismos por los que se inducen los cambios en los lípidos durante el embarazo, pero parece que están parcialmente producidos por la elevación de los niveles de estrógenos y progesterona. A pesar del aumento del colesterol y de los lípidos durante el embarazo, no hay aumento del riesgo de arteriosclerosis a largo plazo.³⁴⁵

El contenido total de fosfolípidos en plasma también está incrementado durante la gestación, acompañado por un incremento en las concentraciones de ácido linoléico y otros ácidos grasos esenciales como el ácido araquidónico.³⁴⁴

1. LÍPIDOS Y PLACENTA .-

A través de la gestación, los ácidos grasos libres (FFA) son requeridos por el feto y la placenta para la síntesis de lípidos, incluyendo fosfolípidos, glicolípidos, esfingolípidos, ésteres de colesterol y TAG.³⁴⁴

El feto humano presenta el 0.5 % de grasa a mediados de la gestación, a las 28 semanas el 3.5 % y a las 34 semanas entre el 7 y 8 %, con valores del 16% aproximadamente para el recién nacido.³⁴⁶ Estudios in vitro con tejidos placentarios humanos, demuestran que alrededor del 50 % del requerimiento graso diario por el feto, durante el último trimestre de la gestación, es provisto por la madre.³⁴⁴

Los TAG no pueden cruzar la barrera placentaria, pero la superficie materna de la placenta contiene lipoproteína lipasa la cual cataliza la liberación de FFA de las lipoproteínas, especialmente de las VLDL. Además, los FFA disociados de la albúmina sérica, la cual transporta lípidos a los tejidos maternos, también proveen un importante componente del suplemento total de FFA a la placenta.³⁴⁴

La placenta posee diferentes mecanismos que potencialmente resultan en transporte preferencial de los ácidos grasos esenciales y los poli-insaturados de cadena larga.

Aunque los lípidos maternos cruzan la placenta, las tasas relativamente bajas sugieren que la mayor parte de acumulación de ácidos grasos fetales al final del embarazo no está producida por transferencia placentaria.³⁴⁷⁻³⁴⁸

Debido a su naturaleza hidrofóbica, los ácidos grasos libres son relativamente insolubles en plasma y circulan unidos a la albúmina. La transferencia de ácidos grasos supone la disociación de las proteínas maternas y la posterior asociación con proteínas placentarias (proteínas ligadoras de ácidos grasos, translocasa y proteínas de transporte) que han sido identificadas en ambas membranas placentaria basolateral y microvellosa; finalmente, se unirán a proteínas plasmáticas fetales.³⁴⁹

Estos pasos de unión a proteínas son más importantes para determinar la transferencia maternofetal de aminoácidos que la interacción con las capas lipídicas de la placenta. La transferencia placentaria de ácidos grasos aumenta logarítmicamente a medida que disminuye la longitud de la cadena (C16 o C18) y después disminuye en cierto modo para los C6 y C4. Este último efecto es debido a una disminución de la solubilidad de los lípidos de cadena corta. Los ácidos grasos esenciales son, en general, transferidos más eficientemente que los ácidos grasos no esenciales. En general, los ácidos grasos transportados reflejan los de la madre.³⁵⁰

2. DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS EN EL CORDÓN UMBILICAL .-

Las cantidades absolutas de ácidos grasos en plasma de cordón umbilical son significativamente más bajas comparados con los valores maternos.³⁵¹

En 1982 Johnson y cols.³⁵² determinaron los niveles de colesterol existentes en el cordón umbilical de fetos de mujeres embarazadas de distintas semanas de gestación (abortos electivos o espontáneos del segundo trimestre, partos pretérmino espontáneos y partos a término) sin ser incluidos en este estudio aquellas mujeres con alguna enfermedad previa o durante la gestación. Entre las semanas de gestación 10 y 16 post-concepción, el nivel total de colesterol en plasma de sangre del cordón umbilical fue de 85.4 +/- 30.7 mg/dL (N= 68). Entre las semanas 16 y 20 post-concepción, el nivel de colesterol descendió a 39.9 +/- 21.0 mg/dL (N=19, p< 0,001), sin embargo entre las semanas 26 y 32, los niveles de colesterol volvieron a ascender hasta 67.8 +/- 24 mg/dL (N=17, p< 0,01). Posteriormente, entre las semanas 32 y 36, el colesterol vuelve a descender a 58.4 +/- 13.6 mg/dL (N=16) y entre las semanas 36 y 40 el nivel de este lípido es de 51.4 +/- 11.5 mg/dL (N=44, p< 0,01 vs 26-32 semanas). Tras la obtención de estos datos, los autores concluyen que los cambios observados en el nivel del colesterol determinado en el cordón umbilical a lo largo de la gestación, podría estar relacionado con modificaciones en la síntesis de lipoproteínas y la posterior utilización del colesterol en las glándulas adrenales del feto, donde este lípido es necesario como sustrato para la biosíntesis de los esteroides.

En 1983 Pocovi y cols.³⁵³ midieron en plasma de 27 mujeres embarazadas y en los cordones umbilicales de sus neonatos, los niveles de TAG, colesterol total, fosfolípidos, lipoproteínas de alta densidad (HDL), apolipoproteína A y apolipoproteína B. Los niveles de estos parámetros fueron significativamente menores (p< 0,001) en el cordón umbilical que en el plasma de la madre.

Parker y cols.³⁵⁴ investigaron la relación existente entre el nivel de apolipoproteína A-1 (Apo A-1) en plasma del cordón umbilical con la edad

gestacional y la HDL-colesterol. Los niveles de Apo A-1 en plasma del feto, que no se correlacionaron con aquellos encontrados en el plasma materno, fueron significativamente más bajos en los fetos nacidos entre las semanas 21 y 26 (52 ± 4.4 mg/dL) que en los nacidos entre las semanas de gestación 33-34 (87 ± 5.8 mg/dL). La relación Apo A-1/HDL-colesterol en plasma del cordón umbilical, aumentó progresivamente desde 2.5 en las semanas de gestación 27-28, hasta 3.5 en las gestaciones a término, debido sobre todo a un aumento en los niveles de Apo A-1 y, en menor medida, a los cambios sufridos por la HDL-colesterol, que oscilaron entre 22-24 mg/dL en cada periodo gestacional. Estos resultados sugieren que los niveles de Apo A-1 en el plasma fetal son producidos fundamentalmente por el propio feto, pero que esa producción o/y aclaramiento se altera durante el tercer trimestre del embarazo.

CAPÍTULO III

- HIPÓTESIS DE TRABAJO

- OBJETIVOS

- PERTINENCIA DEL ESTUDIO

1. HIPÓTESIS DE TRABAJO .-

Desde el ancestro, los mamíferos presentan la tendencia natural de no ligar el cordón umbilical tras el parto, dejando que de forma espontánea, se interrumpa la circulación sanguínea desde la placenta hasta el feto; es lo que hoy llamaríamos ligadura muy tardía del cordón umbilical. Examinando la literatura observamos que:

Los resultados revisados en la bibliografía son francamente contradictorios; hay conclusiones contundentes a favor y/o en contra de los dos tipos de ligadura estudiados (precoz y tardía); esto evidencia que las diferentes investigaciones no son controladas ni bien diseñadas. Las diferencias entre los distintos autores son tan opuestas y de tal calado, que no imaginamos cómo aún permanece sin resolver el momento ideal de la ligadura.

A nosotros nos parece quimérico que un acto tan simple, tan esencial y perteneciente al olvido de los tiempos, aún en nuestros días, esté sin dilucidar.

Analizado el estado de cosas por medio de la revisión bibliográfica y de nuestra propia observación, no está claro el momento idóneo para la ligadura del cordón umbilical, un suceso que reúne dos condiciones fundamentales, como son la simplicidad y la importancia.

Una vez realizada la revisión de la bibliografía, exponemos y planteamos, a continuación, nuestra hipótesis de trabajo.

La **hipótesis alternativa (H_1)** sostiene que, según el tipo de ligadura del cordón -precoz o tardía-, existen diferencias en los estimadores estudiados, incluyendo dentro de ellas las variables clínicas, físicas, bioquímicas generales, así como las variables especiales (concentración de melatonina y las variaciones del equilibrio ácido base) de la sangre del cordón umbilical.

La **hipótesis de nulidad (H_0)** dice: no se puede demostrar que existan las diferencias antes expuestas.

2. OBJETIVOS .-

Para poder aceptar la H_1 o H_0 de nuestra hipótesis, consideramos varios los objetivos que hemos de plantear y que, en los dos tipos de estudio (ligadura precoz y tardía) elegidos al azar, nos conducen a intentar demostrar:

1) El valor de la influencia que la ligadura precoz o la tardía, tienen sobre las características clínicas y fisiológicas del feto en el momento de nacer.

2) El análisis de las variaciones que pueden suceder en cada uno de los tipos de "*clampaje*" del cordón umbilical:

- Parámetros hematológicos y bioquímicos básicos.
- Estimadores del estado ácido base.
- Parámetros hemorreológicos y de la viscosidad.
- Concentración de melatonina.

3) El análisis de la duración del alumbramiento de la placenta en cada tipo o forma de ligadura del cordón.

3. PERTINENCIA Y APORTACIÓN DE NUESTRO ESTUDIO .-

Son varios los motivos que nos llevan a considerar la pertinencia de este estudio:

- Por lo que se refiere al momento de realizarla, el tipo de ligadura del cordón umbilical (precoz y tardía) constituye un suceso que reúne dos condiciones fundamentales, como son la simplicidad y la importancia.

- Su simpleza estriba en que sólo necesita de un ridículo -pero básico - aditamento que "*clampee*" y ocluya la circulación sanguínea en la vena y las arterias umbilicales.

- Su importancia radica en que desde el ancestro, los mamíferos presentan la tendencia natural de no ligar el cordón umbilical tras el parto, dejando que, de forma espontánea y lenta, se interrumpa la circulación sanguínea desde la placenta hasta el feto. ¿Por qué modernamente se cambió la norma, que la naturaleza había preestablecido, al decidir la ligadura del cordón umbilical de forma precoz? No existe concordia en este asunto y se han empleado ríos de tinta para, por unos, defender la ligadura precoz mientras, por otros, suministrar razones a favor de la ligadura tardía.

Intentamos con esta aportación colaborar en el esclarecimiento de este gran problema, lo que sin duda gozará de una gran repercusión en algo básico que hay que realizar en la clínica diaria cuando asistimos un parto.

CAPÍTULO IV

- MATERIAL Y MÉTODOS

Esta tesis Doctoral es interdepartamental y ha sido realizada en:

- El Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Granada (Director: Prof. Luis Navarrete López-Cózar).
- Departamento de Pediatría y Puericultura (Director Prof. Gabriel Galdó Muñoz)

- El Instituto de Nutrición Y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Granada (Director: Prof. Emilio Martínez de Victoria y Muñoz).

Bajo la dirección de los Profesores:

- Luis Navarrete López-Cózar.
- Jesús Florido Navío.
- Antonio Muñoz Hoyos.

El trabajo de campo se ha efectuado en:

- Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Clínico de S. Cecilio de Granada del SAS de la Junta de Andalucía. (Jefe de Servicio: D. Miguel Dolz Romero).

- Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Granada.

- Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada.

1. MATERIAL: SUJETOS DE ESTUDIO .-

Dentro del diseño experimental, el material con el que se desarrolló este proyecto está integrado por 151 gestantes parturientes, con partos en periodo prodrómico, atendidas en el Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario San Cecilio de Granada, entre marzo de 2003 y julio de 2005.

Se seleccionaron para este estudio, embarazadas en trabajo de parto que reunían las siguientes condiciones prefijadas, o **factores incluyentes**:

1. Embarazos sin patología detectable.
2. Feto único y en presentación cefálica.
3. Partos vaginales de terminación espontánea.
4. Gestaciones y fetos a término: de 37 a 42 semanas cumplidas de amenorrea.
5. Neonatos de peso adecuado para su edad gestacional (entre 2500 y 4000 gramos).
6. Recién nacidos vigorosos al primer y quinto minuto de vida: con puntaje de Apgar igual o mayor a 7.

Los **factores de exclusión** han sido:

1. Incompatibilidad sanguínea materno-fetal AB0 y Rh.
2. Todos los recién nacidos no debían presentar signos de hipotermia
3. Todos los que no cumplan los criterios de inclusión antes reseñados.

1.1. Grupos experimentales .-

El material del presente estudio se divide en dos muestras:

1) Una, constituida por el grupo de **ligadura precoz** del cordón umbilical. Hemos llamado así a la realizada **antes de los 20 segundos** de producirse la expulsión fetal. Esta muestra se compone de **79 casos**.

2) Otra, constituida por el grupo de **ligadura tardía** del cordón umbilical. Hemos llamado así a la realizada **a los 2 minutos** tras el nacimiento del feto. Hubiéramos preferido alargar este tiempo más aún -hasta el cese del latido de los vasos umbilicales- pero, durante el periodo "piloto" de puesta en marcha de este proyecto de investigación, observamos que en un número importante de casos, las arterias umbilicales se quedaban exangües a partir de los 2:15 minutos; hubiera sido muy difícil obtener muestras sanguíneas de estos casos. Este grupo se compone de **72 casos**.

2. METODOLOGÍA GENERAL.: OBTENCIÓN DE DATOS MATERNOS Y FETALES .-

Cuando llegaba una gestante en fase prodrómica de parto, se estudiaban todas las circunstancias maternas y fetales tomando en consideración los criterios de inclusión y exclusión antes reseñados. De este modo se seleccionó cada caso.

Una vez seleccionada a su entrada en la sala de dilatación, solicitamos de la parturiente un consentimiento informado, tras ser explicado el proceso, el método y la finalidad del estudio.

Escogida como apta para ser incluida en el presente estudio, se seleccionaron al azar, mediante una tabla de números aleatorios, el grupo de estudio en el que iba a ser incluida: ligadura precoz o ligadura tardía del cordón umbilical.

A lo largo del parto se fueron controlando los estimadores de que se compone este estudio -analíticos o/y clínicos- y, simultáneamente, se recogieron las muestras necesarias para su postrer elaboración y análisis. En una hoja de recolección de datos acopiamos todos los datos relevantes de las pacientes embarazadas y de sus recién nacidos, como son:

2.1. Datos maternos .-

- Fecha y hora del parto (importante para la determinación de la melatonina).
- Grupo de estudio que aleatoriamente fue asignado: tipo de ligadura del cordón umbilical.
- Semana de gestación.
- Nombre.
- Número de historia clínica.
- Inicio del parto (espontáneo, espontáneo-estimulado)
- Centímetros de dilatación con los que inicia el control de parto.

- Tiempo en minutos desde el inicio del parto hasta comienzo de la fase de expulsivo del parto.
- Duración en minutos del periodo de expulsivo.
- Índice de velocidad de dilatación: dilatación en centímetros que presenta la mujer a su entrada a la sala de dilatación, con el tiempo que tarda en alcanzar la dilatación completa.
- Empleo o no de la anestesia epidural durante el parto.
- Características del líquido amniótico (claro, teñido).
- Características del registro cardiotocográfico (presencia o no de DIP durante la dilatación o el periodo de expulsivo).
- Circulares de cordón umbilical.
- Tipo de alumbramiento (espontáneo, manual).
- Tiempo en minutos que se tarda en realizar el alumbramiento de la placenta.
- Gases y pH del cordón umbilical, tanto de arteria como de vena.

2.2. Datos fetales .-

- Número de historia clínica.
- Sexo.
- Peso.
- Reanimación (matrona o pediatra).
- Evolución del neonato en las 48 horas siguientes.

3. MATERIAL: CARACTERÍSTICAS DEL MATERIAL .-

Existen dos grupos de estudio, ligadura precoz y ligadura tardía del cordón umbilical, que han sido elegidos al azar siguiendo el método de números aleatorios. Así, elegidos de esta forma, habrá de esperarse que todas las características inherentes a ellos no sean diferentes. Pero esto hay que demostrarlo; para ello, mediante el procedimiento estadístico adecuado estudiaremos la existencia de igualdad o diferencias entre sus caracteres o estimadores para demostrar que en ambos grupos de estudio todos los caracteres pesan de la misma forma. Es el método de fijar parámetros y que nos permite con garantía poder aceptar o rechazar la hipótesis planteada.

Los caracteres a estudiar y fijar en ambos grupos son:

3.1. Edad materna .-

Entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas en la edad materna (**Fig. 3.1**).

3.3. Edad gestacional .-

Entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas en la edad gestacional que había en el momento del parto (**Fig. 3.1**).

		MEDIA	DS ⁽¹⁾	EEM ⁽²⁾	Test "U" MANN WHITNEY "Z" "P"
Edad materna	Ligadura precoz	30,15	4,89	0,55	-0,206 0,83
	Ligadura tardía	29,92	4,68	0,55	
Edad gestacional al parto (semanas)	Ligadura precoz	39,16	1,12	0,12	-0,189 0,85
	Ligadura tardía	39,15	0,98	0,11	

Figura 3.1

⁽¹⁾ Desviación típica

⁽²⁾ Error estándar de la media

3.4. Dilatación en centímetros a la entrada a la sala de dilatación .-

Entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas en la dilatación al comienzo del parto, o mejor, a su entrada en la sala de dilatación (Fig. 3.2).

3.5. Duración del periodo de expulsivo (minutos) .-

Entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas en la duración del periodo de dilatación (Fig. 3.2).

3.6. Duración de la dilatación (minutos)³ .-

Entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas en la duración total del parto (Fig. 3.2).

3.7. Índice de velocidad de la dilatación (cm/minuto) .-

Entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas. Esta variable relaciona la dilatación en centímetros que presenta la mujer a su entrada a la sala de dilatación, con el tiempo que tarda en alcanzar la dilatación completa (Fig. 3.2).

		MEDIA	DS ⁽¹⁾	EEM ⁽²⁾	Test "U"	
					MANN "Z"	WHITNEY "P"
Dilatación inicio	Ligadura precoz	3,56	1,7	0,19	-2,517	0,01
	Ligadura tardía	4,43	1,912	0,22		
Duración periodo expulsivo	Ligadura precoz	46,25	40,014	4,50	-1,120	0,26
	Ligadura tardía	49,26	32,80	3,86		
Duración dilatación ³	Ligadura precoz	207,78	127,57	14,3	-1,117	0,26
	Ligadura tardía	185,90	122,54	14,44		
Índice velocidad dilatación	Ligadura precoz	0,035	-0,04	0,005	-1454	0,14
	Ligadura tardía	0,042	0,04	0,006		

Figura 3.2

⁽¹⁾ Desvío estándar

⁽²⁾ Error estándar de la media

3.8. Paridad .-

Los resultados obtenidos son:

Ligadura precoz: 51 (64,6%) multíparas y 28 (35,4%) nulíparas.

Ligadura tardía: 56 (77,8%) multíparas y 16 (22,2%) nulíparas.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre la paridad que tenían las componentes de ambas muestras de estudio. $X^2 = 3,189$ ($p < 0,074$) (Fig. 3.3).

PARIDAD

	Múltipara	Nulípara	X ²	"P"
Ligadura precoz	51 (64,6 %)	28 (35,4 %)	3,189	0,074
Ligadura tardía	56 (77,8 %)	16 (22,2 %)		

Figura 3.3

X² Chi-Cuadrado de Pearson

3.9. Fumadora .-

Todas las mujeres fumadoras lo hacía a un ritmo comprendido entre 1 y 10 cigarrillos por día. Los resultados obtenidos son:

Ligadura precoz: 70 (88,6%) no son fumadoras y 9 (11,4%) fuman menos de 10 cigarrillos por día.

Ligadura tardía: 69 (95,8%) no fuman y 3 (4,2%) fuman menos de 10 cigarrillos por día.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre ser fumadora o no entre las componentes de ambas muestras de estudio. X² = 2,688 (p < 0, 101) (Fig. 3.4).

FUMADORA

	No-fuma	Fuma	X ²	"P"
Ligadura precoz	70 (88,6 %)	9 (11,4 %)	2,668	0,10
Ligadura tardía	69 (95,8 %)	3 (04,2 %)		

Figura 3.4

3.10. Forma de inicio del parto .-

Los resultados obtenidos son:

Ligadura precoz: 26 mujeres (32,9%) iniciaron el parto de forma espontánea y 53 (67,1%) lo hicieron de forma inducida.

Ligadura tardía: 24 (33,3%) mujeres iniciaron el parto de forma espontánea y 48 (66,7%) de forma inducida.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre la forma de inicio del parto que tenían las componentes de ambas muestras de estudio. X² = 0,003 (p < 0, 956) (Fig. 3.5).

FORMA DE INICIO DEL PARTO

	Espontáneo	Inducido	χ^2	"P"
Ligadura precoz	26 (32,9 %)	53 (67,1 %)	0,003	0,95
Ligadura tardía	24 (33,3 %)	48 (66,7 %)		

Figura 3.5

3.11. Empleo de epidural .-

Los resultados obtenidos son:

Ligadura precoz: 56 (70,9%) parieron bajo el efecto de la analgesia epidural y 23 (29,1%) dieron a luz sin anestesia epidural.

Ligadura tardía: 45(62,5%) usaron la anestesia epidural y 27 (37,5%) no la emplearon.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre el empleo de la anestesia epidural o no entre las componentes de ambas muestras de estudio. $\chi^2 = 1,196$ ($p < 0,274$) (Fig. 3.6).

EPIDURAL

	Si	No	χ^2	"P"
Ligadura precoz	56 (70,9 %)	23 (29,1 %)	1,196	0,27
Ligadura tardía	45 (62,5 %)	27 (37,5 %)		

Figura 3.6

3.12. Líquido amniótico .-

Los resultados obtenidos son:

Ligadura precoz: 65 (82,3%) tuvieron el líquido amniótico claro y 14 (17,7%) teñido de meconio.

Ligadura tardía: 66 (91,7%) presentaron el líquido amniótico claro y 6 (8,3%) teñido de meconio.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre las características del líquido amniótico que tenían las componentes de ambas muestras de estudio. $\chi^2 = 2,889$ ($p < 0,089$) (Fig. 3.7).

LÍQUIDO AMNIÓTICO

	Claro	Teñido (aguas posteriores)	X ²	"P"
Ligadura precoz	65 (82,3 %)	14 (17,7 %)	2,889	0,09
Ligadura tardía	66 (91,7 %)	6 (08,3 %)		

Figura 3.7

3.13. Registro cardiotocográfico de la F. C. F (RCTG) .-

Los resultados obtenidos de la valoración de la frecuencia cardiaca fetal, obtenida por cardiotocografía, son:

Ligadura precoz: No se observaron alteraciones en el registro de la FCF en 69 registros (87,3%); en 10 (12,7%) aparecieron dip característicos durante el periodo expulsivo.

Ligadura tardía: No se observaron alteraciones en el registro de la FCF en 68 (94,4%); en 4 (5,6%) aparecieron dip característicos durante el periodo expulsivo.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre la presencia de DIP variables en el periodo de expulsivo y las que no los tenían, entre las diferentes componentes de ambas muestras de estudio. Test de Fischer = 3,6 (p < 0,133) (Fig. 3.8).

REGISTRO CARDIOTOCOGRÁFICO

	Normal	DIP de expulsivo	TEST DE FISHER X ²	"P"
Ligadura precoz	69 (87,3 %)	10 (12,7 %)	3,60	0,13
Ligadura tardía	68 (94,4 %)	4 (05,6 %)		

Figura 3.8

3.14. Circular de cordón umbilical .-

Los resultados obtenidos sobre la existencia de circular de cordón umbilical, son:

Ligadura precoz: 66 (83,5%) de los recién nacidos no presentaron circulares de cordón umbilical, mientras que 13 (16,5%) si las tenían.

Ligadura tardía: 55 (76,4%) de los neonatos tuvieron circulares de cordón umbilical y en 17 (23,6%) no se dio esta circunstancia.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre la presencia o no de circulares de cordón umbilical entre los neonatos de ambas muestras de estudio. Test de Fischer = 0,01 ($p < 0,271$) (Fig. 3.9).

CIRCULARES DE CORDÓN UMBILICAL			
	Si	No	Test FISHER χ^2 "p"
Ligadura precoz	66 (83,5 %)	13 (16,5 %)	0,01 0,27
Ligadura tardía	55 (76,4 %)	17 (23,6 %)	

Figura 3.9

3.15. Sexo del recién nacido .-

Los resultados obtenidos son los siguientes:

Ligadura precoz: 34 (43%) de los recién nacidos fueron varones y 45 (57%) fueron mujeres.

Ligadura tardía: 40 (55,6%) de los recién nacidos fueron varones y 32 (44,4%) fueron mujeres.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre el sexo de los recién nacidos de ambas muestras de estudio. $\chi^2 = 2,362$ ($p < 0,124$) (Fig. 3.10).

SEXO DEL RECIÉN NACIDO			
	Masculino	Femenino	χ^2 "p"
Ligadura precoz	34 (43,0 %)	45 (57,0 %)	2,362 0,12
Ligadura tardía	40 (55,6 %)	32 (44,4 %)	

Figura 3.10

4. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS .-

Se obtuvieron las siguientes muestras para su posterior estudio:

- **Muestra BASAL de la sangre de la madre.** Se extraían al comienzo de la fase activa en la sala de dilatación (a todas las madres parturientes que llegan a la sala de dilatación, se les coge una vía, por lo que aprovechábamos esta circunstancia, previa información y permiso materno).

- **Segunda muestra sanguínea de la madre.** Se obtenían cuando estaba finalizando el periodo expulsivo y la cabeza fetal se encontraba entre el III-IV plano de Hodge (previo permiso de la madre).

- **Muestra sanguínea de vena del cordón umbilical.**

- **Muestra sanguínea de arteria del cordón umbilical.**

5. DEFINICIÓN DE VARIABLES .-

Se analizaron las siguientes variables:

a. **Sangre de la madre** (muestra basal). Se extrae en la sala de dilatación y en esta primera muestra obtenemos los siguientes parámetros:

- Hemograma (serie blanca, roja, plaquetas).
- Melatonina.

b. En la segunda muestra sanguínea de la madre se analiza:

- Melatonina.

c. **Sangre de la vena del cordón umbilical:**

- Hemograma y fibrinógeno.
- Bioquímica (bilirrubina total, indirecta, directa, glucosa).
- Gasometría y pH.
- Melatonina.
- Viscosidad.
- Colesterol, fosfolípidos, triacilglicéridos, proteínas plasmáticas.

d. **Sangre de la arteria umbilical:**

- Gasometría y pH.
- Melatonina.
- Viscosidad.
- Colesterol, fosfolípidos, triacilglicéridos, proteínas plasmáticas.

6. ANALÍTICA REALIZADA .-

6.1. Obtención del plasma sanguíneo .-

Las distintas muestras de sangre que se obtenían, se depositaban en tubos con heparina litio como anticoagulante y se mantenían a 4°C durante todo el proceso.

La sangre se centrifugaba a 2500 rpm durante 15 minutos a 4°C, en una centrífuga refrigerada de mesa Beckman modelo GS-6R (Beckman Fullerton, CA, USA). Seguidamente se separaba el plasma, el cual fue alicuotado en eppendorf y congelado a -80 °C hasta el momento de la analítica.

6.2. Medición de los parámetros hematológicos .-

Dichos parámetros se analizaron en el hospital mediante las técnicas de rutina del laboratorio del Servicio de Hematología.

6.3. Medición de parámetros gasométricos y pH .-

Se analiza con un pHmeter Combi-Analizer, explorando el pH, pO₂ y pCO₂ con electrodo polarográfico directo y [HCO₃]⁻.

6.4. Medición de la VISCOSIDAD .-

6.4.1. Método de medida de la viscosidad plasmática .-

La viscosidad plasmática es un factor importante que influye en la viscosidad sanguínea, correlacionándose directamente con la concentración de grandes moléculas en el plasma, en especial proteínas.

Aunque se han definido muchos métodos para su medida, con el fin de utilizar criterios estandarizados para hacer posible una comparación de nuestros resultados con los de otros autores, hemos seguido las normas del Comité Internacional para la Estandarización en Hemorreología³⁵⁵.

Las razones que se aducen para la utilización de este tipo de viscosímetros, propuestos por el Comité Internacional de Estandarización Hematológica³⁵⁵, se pueden resumir en los siguientes puntos:

- Bajo coste y simplicidad del instrumento capilar.
- Volumen de sangre preciso: sólo 0.5 ml para la prueba.
- Duración del test: el tiempo total que se requiere para cada medida es inferior a un minuto.
- Sensibilidad: el instrumento permite diferenciar entre muestras con diferencias de viscosidades de tan sólo 0.02 mPa.s.

Es obvio que los valores finales de viscosidad pueden ser modificados por factores que inciden durante la obtención de las muestras, por este motivo se requiere una estandarización del procedimiento.

Determinamos la viscosidad plasmática en muestras de plasma obtenidas a partir de 1 ml de sangre anticoagulada con heparina litio, por centrifugación a 2500 rpm durante 10 minutos. En cualquier caso, las medidas se realizan antes

de las seis horas después de obtener las muestras, separando previamente el plasma y el paquete globular.³⁵⁵

Las modificaciones de la viscosidad plasmática dependen del tiempo y frecuencia con que las células en suspensión están en contacto con el plasma (lisis celular). Por este motivo, en nuestra experiencia el tiempo transcurrido entre la extracción sanguínea y la centrifugación de la muestra no fue en ningún caso superior a seis horas. La sangre recogida y centrifugada inmediatamente, mantiene una viscosidad plasmática estable durante un periodo de 24 horas a temperatura ambiente.

6.4.2. Conceptos básicos .-

Para medir la viscosidad de líquidos, deben ser definidos los parámetros que son efectivos en el proceso de flujo. Después tienen que ser halladas las condiciones de ensayo adecuadas que permitan una medición del comportamiento de fluidez de manera objetiva y reproducible.

Isaac Newton encontró la ley elemental de la viscosimetría que describe el comportamiento de un líquido ideal:

$$\tau = \eta \cdot D$$

El modelo del flujo de un líquido entre dos placas planas paralelas suficientemente grandes, sirve para definir las magnitudes “esfuerzo de cizalladura” y “gradiente de velocidad”.

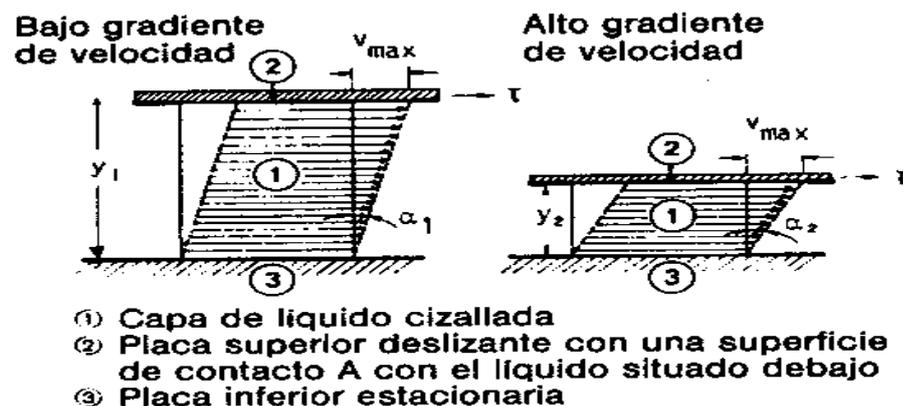


Figura 3.11

6.4.2.1. Esfuerzo de cizalladura:

Cuando en este modelo se aplica una fuerza F a la placa superior con la superficie A en la dirección indicada, el líquido contenido en la ranura entre las placas comienza a fluir. El cociente entre la fuerza F y la superficie de contacto A

con el líquido se define como esfuerzo de cizalladura. La velocidad del flujo del líquido, que se obtiene por medio del esfuerzo de cizalladura efectivo, se determina a través de la resistencia interna que opone el líquido contra fluir, esto es, a través de la viscosidad η .

$$\tau = \frac{F \text{ (fuerza)}}{A \text{ (superficie)}} = \frac{N \text{ (Newton)}}{m^2} = \text{Pa (Pascal)}$$

La unidad "Pascal" sustituye la antigua unidad "dina/ cm²".

$$1 \text{ Pa} = 10 \text{ dinas / cm}^2.$$

6.4.2.2. Gradiente de velocidad:

El esfuerzo de cizalladura τ obliga al líquido a fluir en la ranura, obteniéndose una caída de velocidades entre ambas placas, que es diferente según el líquido. La velocidad máxima de flujo V_{\max} se obtiene en la superficie límite superior A. Hasta la superficie límite inferior que está en contacto con la placa estacionaria, la velocidad de flujo decrece oblicuamente respecto a la ranura y ente las dos placas hasta una $V_{\min} = 0$. Flujo laminar significa que láminas de líquido infinitamente delgadas se desplazan paralelamente unas respecto a otras. El desplazamiento que sufre una capa de líquido frente a otra representa un componente elemental del movimiento total a que es sometido el líquido entre ambas placas.

El gradiente de velocidad D se define según el siguiente cociente diferencial:

$$D = \frac{dv}{Dy} = \frac{\text{cm/s}}{\text{cm}} = \frac{1}{s} = (\text{s}^{-1})$$

6.4.3. Parámetros de viscosidad .-

La viscosidad describe el comportamiento físico de un líquido mientras es cizallado, o sea, cuando como consecuencia de un esfuerzo de cizalladura adquiere una velocidad de flujo. La viscosidad puede depender de 5 parámetros.

$$\eta = \text{Función de S, T, P, D, t}$$

"S": Este parámetro identifica la constitución fisicoquímica de la sustancia a medir, por ejemplo si el líquido es agua, plasma, sangre total, etc.

"T": Este parámetro define la temperatura de la sustancia. La viscosidad depende altamente de las variaciones de la temperatura. Por ejemplo, con una elevación de la temperatura de sólo 1°C, la viscosidad de algunos aceites minerales disminuye cerca del 10%.

"P": El parámetro "presión" en general tiene influencia sólo a altas presiones. Por lo tanto, es de poca relevancia en la práctica con la mayoría de los

casos a altas presiones. Los líquidos son compresibles bajo altas presiones (en forma parecida a los gases), pero de manera menos notable. Con la presión se eleva la resistencia intermolecular; elevaciones de la presión provocan aumentos de la viscosidad.

“D”: El parámetro “gradiente de velocidad” influye decisivamente en la viscosidad de muchos líquidos. Una elevación del gradiente de velocidad puede significar un aumento o disminución de dicha viscosidad.

“t”: El parámetro “tiempo” describe el fenómeno que representa el que la viscosidad de algunas sustancias, generalmente dispersiones, depende fuertemente de la duración del tratamiento previo, como por ejemplo el tiempo de cizallamiento o de regeneración que preceden al test.

Utilizamos un viscosímetro de caída de bola (Haake), que pasamos a describirlo.

6.4.4. Descripción del viscosímetro de Haake .-

El viscosímetro de caída de bola es un viscosímetro sencillo pero, aún así, muy exacto para líquidos newtonianos.

Una muestra líquida, se encuentra en un tubo de vidrio (1) por el que se deslizará la bola, el cual puede ser exactamente atemperado con un termostato de circulación a través de su camisa de atemperación (3). Este tubo está inclinado 10° respecto a la vertical y posee dos marcas anulares A y B en una distancia $\Delta L = 100$ mm. Una bola (2) cae a través del líquido a medir. Desde la posición inicial de la bola hasta la primera marca anular A se necesita el tramo L_v para alcanzar una velocidad de caída constante de la bola, o sea, para alcanzar condiciones de flujo estacionarias. Se mide el tiempo Δt que precisa la bola para atravesar el tramo entre las marcas A y B (Figura 3.12 y 3.13).

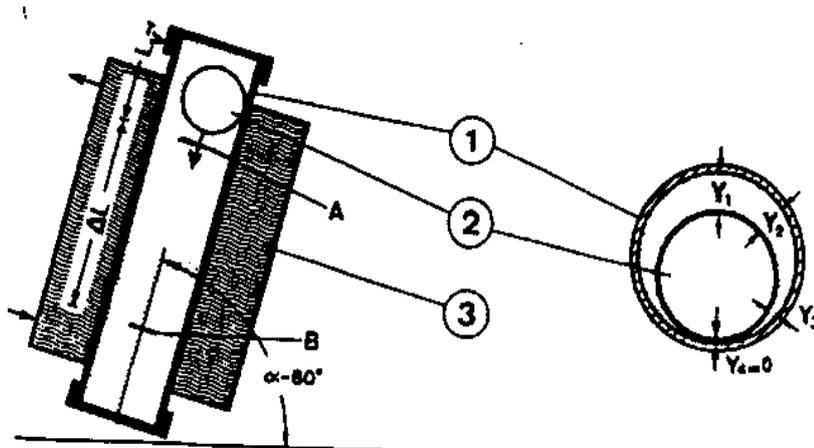


Figura 3.12. Esquema del viscosímetro de caída de bola

Este valor Δt se utiliza para calcular la viscosidad absoluta en las unidades usuales (mPa.s). El instrumento se calibra por medio de un líquido newtoniano de viscosidad conocida. La viscosidad η en milipascal segundo se calcula según la ecuación:

$$\eta = k \cdot (\rho_1 - \rho_2) \cdot \Delta t$$

k = constante del aparato (mPa.s.cm³/g.s): 0.358 (mPa.s. cm³/g.s).

ρ_1 = densidad de la bola (g/cm³).

ρ_2 = densidad del líquido (g/cm³). La densidad del plasma en sangre venosa del cordón umbilical de recién nacidos a término sanos es de 1023 g/cm³.

Δt = tiempo de descenso de la bola (s): determinado electrónicamente por el viscosímetro y expresado en milisegundos.

El viscosímetro de caída de bola sólo se puede utilizar para líquidos newtonianos por motivos de su construcción. Los 10° de inclinación del tubo de caída garantizan que la bola esté siempre en contacto con un lado del tubo. Así, el tubo con la bola forman una ranura en forma de hoz, por la que tiene que fluir el líquido a ensayar. Las distancias Y_1 a Y_4 muestran que la anchura de la ranura varía alrededor de la bola y como el gradiente de velocidad está relacionado con la velocidad de flujo y la anchura de la ranura, es evidente que no puede existir ningún gradiente de velocidad constante a lo ancho de la ranura en forma de hoz. Cuando la bola cae y el líquido fluye a su alrededor, se somete éste a un amplio campo de gradientes de velocidades. Por este motivo los resultados de medición de líquidos no newtonianos no son aprovechables.

6.5. Medición de parámetros bioquímicos .-

Son varios los parámetros bioquímicos determinados en las muestras sanguíneas, siendo la mayoría de ellos determinados mediante la utilización de kits comerciales.

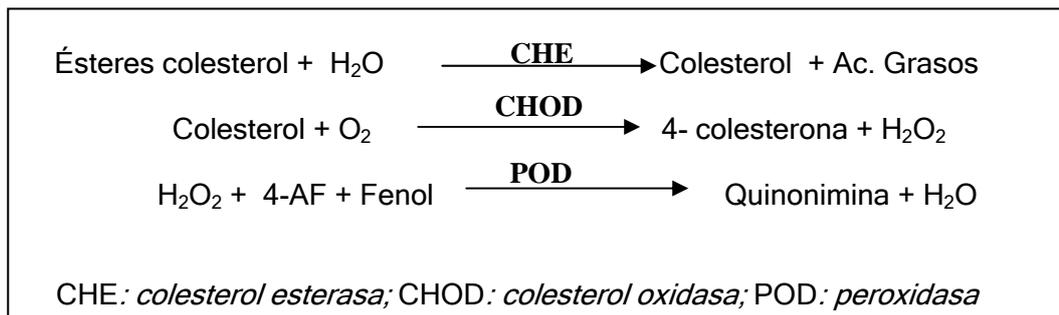
6.5.1. Determinación de bilirrubina .-

Los valores de bilirrubina se analizaron en el laboratorio de Bioquímica del Hospital Universitario San Cecilio de Granada. Para dicha determinación se ha utilizado un aparato Synchan Lxi725. La bilirrubina se convierte en azobilirrubina (color azul) mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente.

Los reactivos de trabajo utilizados son R1 (ácido sulfanílico), R2 (Sodio nitrito) y R3 (cafeína). A la mezcla se le adicionó la muestra (10 μ l) y tras agitación, se incubó durante 5 minutos a 37 °C.

6.5.2. Determinación de colesterol total en plasma .-

El colesterol en plasma se determinó mediante la utilización de un kit comercial de Spinreact (Barcelona, España), basado en reacciones enzimáticas-colorimétricas (CHOD-POD). El método se basa en las siguientes reacciones:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada.³⁵⁶⁻³⁵⁷

En primer lugar se mezclaron los reactivos de trabajo (R1 (PIPES y fenol) y R2 (colesterol esterasa, colesterol oxidasa, peroxidasa y 4-aminofenazona (4-AF)), siguiendo las instrucciones de la casa comercial. Posteriormente, se adicionó la muestra (10 µl) y se incubó durante 5 minutos a 37°C. Finalmente, la muestra fue leída a 505 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro Perkin Elmer UV-Vis Lambda 16.

El cálculo de la concentración fue determinado con la siguiente formula:

$$(\text{D.O muestra} / \text{D.O estándar}) \times \text{concentración del patrón de colesterol} = \text{mg/dl de colesterol en la muestra}$$

6.5.3. Determinación de fosfolípidos en plasma .-

El contenido de fosfolípidos en plasma se determinó mediante la utilización de un kit comercial de Spinreact (Barcelona, España), basado en reacciones enzimáticas-colorimétricas (CHO-POD).

El método se basa en que los fosfolípidos existentes en la muestra son hidrolizados gracias a la fosfolipasa D y la colina liberada es posteriormente oxidada por la colina oxidasa, con la simultánea producción de peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno se acopla de forma oxidada a la 4-aminofenazona en presencia de peroxidasa, formándose finalmente una quinonamina coloreada. La intensidad del color es proporcional a la concentración de fosfolípidos presentes en la muestra ensayada.³⁵⁸⁻³⁵⁹

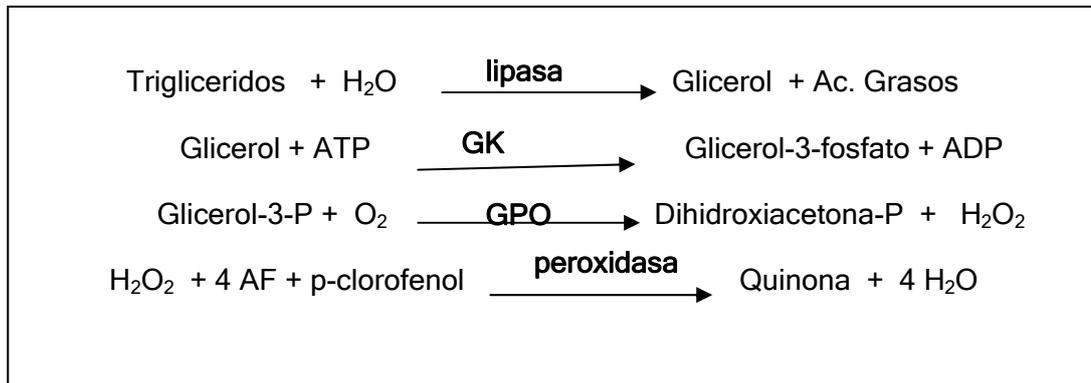
Siguiendo las instrucciones de la casa comercial, en primer lugar se mezclaron los reactivos de trabajo (R1 (Tris y diclorofenol) y R2 (Fosfolipasa D, colina oxidasa, peroxidasa y 4-aminofenazona). A la mezcla se le adicionó la muestra (10 µl) y tras agitación, se incubó 5 minutos a 37 °C. Finalmente, la muestra fue leída a 505 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro Perkin Elmer UV-Vis Lambda 16.

El cálculo de la concentración fue determinado con la siguiente formula:

$$(\text{D.O muestra} / \text{D.O estándar}) \times \text{concentración del patrón de fosfolípidos} = \text{mg/dl de fosfolípido en la muestra}$$

6.5.4. Determinación de triacilglicéridos en plasma .-

La determinación de triglicéridos plasmáticos fue realizada mediante la utilización de un kit comercial de Spinreact (Barcelona, España), basado en reacciones enzimáticas-colorimétricas (CGPO-POD). El método se basa en que los triglicéridos existentes en la muestra originan un compuesto de coloración roja según las siguientes reacciones:



GK: *glicerol quinasa*; GPO: *glicerol fosfato oxidasa*; AF: *4-aminofenazona*

La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra ensayada.³⁶⁰⁻³⁶¹

Siguiendo las instrucciones de la casa comercial, en primer lugar se mezclaron los reactivos de trabajo (R1 (GOOD y p-clorofenol) y R2 (lipoprotein lipasa, glicerol quinasa, glicerol 3 oxidasa, peroxidasa, 4-aminofenazona y ATP). A la mezcla se le adicionó la muestra (10 µl) y tras agitación, se incubó 5 minutos a 37 °C. Finalmente, la muestra fue leída a 505 nm de longitud de onda en un espectrofotómetro Perkin Elmer UV-Vis Lambda 16.

El cálculo de la concentración fue determinado con la siguiente formula:

$$(\text{D.O muestra} / \text{D.O estándar}) \times \text{concentración del patrón de triglicéridos} = \text{mg/dl de triglicéridos en la muestra}$$

6.5.5. Determinación de proteínas totales en plasma .-

Para su análisis, se utilizó un kit comercial de Spinreact (Barcelona, España), basado en que, en un medio alcalino, las proteínas dan un intenso color violeta azulado en presencia de sales de cobre; contiene yoduro como antioxidante.³⁶²

El cálculo de la concentración fue determinado con la siguiente formula:

$$\text{Muestra/ Patrón} \times 7 (\text{Conc. Patrón}) = \text{g/dL de proteínas totales}$$

6.6. Medición de la MELATONINA .-

Como hemos comentado anteriormente, la melatonina es la mayor hormona secretada por la glándula pineal y un modulador de los biorritmos circadianos, además de un potente antioxidante.²⁶³

Su determinación en plasma ha sido realizada mediante la utilización de un kit comercial de la casa Labor Diagnostica Nord (LDN) (Nordhom, Alemania). Este kit proporciona el material necesario para la medida cuantitativa de melatonina en plasma mediante radioinmunoensayo I¹²⁵. El proceso sigue los principios básicos de radioinmunoensayo, incluyendo la competencia entre un antígeno radioactivo y otro no radioactivo para los sitios de unión de los anticuerpos. La cantidad de antígenos marcados con yodo-125 unidos al anticuerpo, es inversamente proporcional a la concentración de la muestra analizada. Cuando el sistema está equilibrado, el anticuerpo marcado radiactivamente precipita con un segundo anticuerpo en presencia de polietilenglicol. El precipitado se contabiliza en un contador *gamma* y la cuantificación de muestras desconocidas, se realiza comparando su actividad con una curva de referencia preparada con estándares conocidos (**Figura 3. 14**).

6.6.1. Procedimiento .-

En primer lugar, se reconstituyeron los estándares, controles y enzimas siguiendo las instrucciones de la casa comercial.

A continuación, se pipetearon 100 µL de muestra, estándares y controles en sus correspondientes tubos etiquetados, a los cuales se les adicionó 25 µL de la solución enzimática. Los tubos fueron agitados, centrifugados a 500 g durante un minuto e incubados 1 hora a temperatura ambiente.

Posteriormente, se le adicionó 50 µL de buffer de ensayo y 50 µL de melatonina marcada con yodo 125; tras su mezcla, se centrifugó a 500 g durante 1 minuto y se incubaron de 15 a 20 horas a temperatura ambiente; tras dicha incubación, se le adicionó 500 µL de mezcla precipitante fría, mezclándose fuertemente e incubándose 15 minutos a 2-8° C.

Finalmente, los tubos fueron centrifugados 15 minutos a 3000 g, se eliminó el sobrenadante y fueron dejados en un contador gamma durante 1 minuto.

A los valores obtenidos es necesario sustraer el valor de referencia o blanco. Para la cuantificación de la melatonina se creó una regresión sigmoidea a partir de estándares de concentraciones conocidas, similar a la mostrada en la **Figura 3.13**.

Regresión sigmoidea

$$Y = a + b / (1 + \exp(-(x-b)/c))$$

$$R^2 = 0,9962$$

$$a = 0,000$$

$$b = 97,7062$$

$$c = 4,6151$$

$$d = -0,7084$$

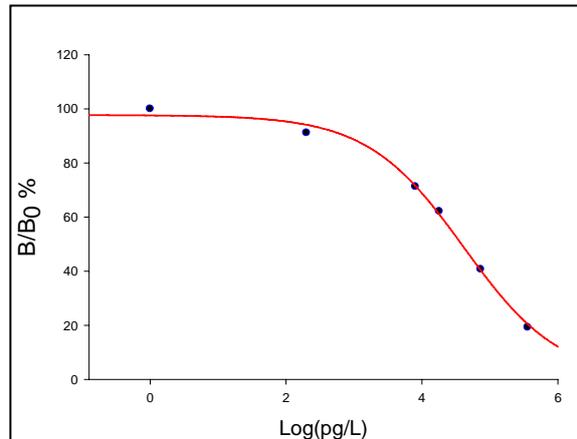


Figura 3.13

7. MÉTODO DE DISEÑO EXPERIMENTAL .-

El estudio tendrá lugar antes de que se produzcan los hechos y por lo tanto, se trata de un estudio prospectivo, que se ha desarrollado por un periodo de 2 años y 5 meses (entre marzo de 2003 y julio de 2005).

El investigador realiza una actuación que altera la historia natural del proceso. Así pues, tras exponer deliberadamente a un grupo de individuos a una acción determinada (ligadura precoz del cordón umbilical) y, una vez observados los fenómenos ocurridos en ellos, los compara con otros fenómenos de otro grupo de individuos que no son expuestos a la referida determinada acción (ligadura tardía).

Se relacionan los dos grupos de estudio en función de la causa (ligadura precoz y tardía del cordón umbilical), y durante el seguimiento de estos grupos se analiza la aparición de los efectos, así pues, se trata de un ESTUDIO DE COHORTES.

8. MÉTODO ESTADÍSTICO .-

Durante las fases I y II del parto de todos los casos estudiados, cada una de las características privativas maternas, fetales y tocúrgicas, hay que ver si pesan o influyen por igual en ambos grupos de estudio de ligadura precoz y tardía del cordón umbilical. Cuando los parámetros a estudiar estén compuestos por variables continuas, estudiaremos la estadística descriptiva de cada parámetro (medidas de tendencia central y de variación), así como la forma de distribución, para ver de qué modo se ajusta a la curva normal y poder solventar qué tipo de prueba estadística es la más adecuada cuando utilicemos la estadística de contraste. En ningún caso los parámetros se ajustaron a la curva normal, por lo que consideramos más adecuado emplear el test "U" de Mann y Whitney para muestras independientes. En el caso de que la variable no sea continua, el análisis bivalente será utilizado para aceptar si existe asociación entre las diferentes variables. Para el contraste de hipótesis se empleará el test de la X^2 para tablas de contingencia, o en el caso de que los observados y teóricos así lo aconsejen, usaremos el test de Yates o bien, la probabilidad exacta de Fischer.

El análisis estadístico de los resultados lleva emparejado discernir si las medidas son continuas o discretas. En el primer caso, el estudio de los resultados se inicia conociendo la estadística descriptiva (medidas de tendencia central y de variación) así como en que grado se ajusta a la curva normal. De esto sale la decisión del tipo de estadística de contraste a emplear para poder conocer si las muestras de los dos grupos de estudio -ligadura precoz y tardía- son extraídas o no de la misma población. Como todos los parámetros no se ajustan a la curva normal hemos utilizado como estadística de contraste para datos continuos:

- El test "U" de Mann y Whitney para muestras independientes.
- El test de Wilcoxon cuando las muestras son dependientes o apareadas.

En el caso de que la variable no sea continua, el análisis bivalente será utilizado para aceptar si existe asociación entre las diferentes variables. Para el contraste de hipótesis se empleará el test de la X^2 para tablas de contingencia, o en el caso de que los observados y teóricos así lo aconsejen, usaremos el test Yates o bien, la probabilidad exacta de Fischer.

En algún caso será necesario emplear la dispersión, correlación y regresión (paramétrica o no-paramétrica) cuando cada parámetro esté definido por dos variables.

9. MÉTODO INFORMÁTICO .-

Para los cálculos estadísticos y la construcción de gráficos nos hemos valido del paquete estadístico SPSS 12.0., utilizado por ser alumna del tercer ciclo de la Universidad de Granada.

CAPÍTULO IV

- RESULTADOS

Estudio del comportamiento de los estimadores que componen el hemograma, según el tipo de ligadura del cordón umbilical .-

En la muestra de ligadura precoz del cordón (n = 53 casos) analizamos los componentes del hemograma y los comparamos con los obtenidos en la muestra de ligadura tardía de cordón (n = 39 casos). El resultado ha sido:

- **Hematíes:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,98$) (Figura 4.1).

- **Hemoglobina:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,80$) (Figura 4.1).

- **Hematocrito:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,98$) (Figura 4.1).

- **Plaquetas:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,12$) (Figura 4.1).

- **Leucocitos:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,92$) (Figura 4.1).

ESTUDIO DEL HEMOGRAMA EN VENA UMBILICAL
Según tipo de ligadura de cordón

PARÁMETRO	n	Media	D.S.	T. "U" Mann-Whitney z	"p"
HEMATÍES (x 10 ⁶ /μl)	53	4,97	4,4	-0,024	< 0,98
	39	4,93	5,3		
HEMOGLOBINA (g/dl)	53	16,1	1,8	-0,24	< 0,80
	39	16,0	1,5		
HEMATOCRITO (%)	53	49,7	5,7	-0,02	< 0,98
	39	49,3	5,3		
PLAQUETAS (x 10 ³ /μl)	53	316,2	88,4	-1,51	< 0,12
	39	349,7	84,4		
LEUCOCITOS (x 10 ³ /μl)	53	15,5	5,2	-0,95	< 0,92
	39	15,0	4,4		

Figura 4.1

Al considerar la **viscosidad de la vena umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 43 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 1,13; mediana = 1,15 y moda = 0,99

- de variación:

DE = 0,21; EEM = 0,03; $P_{10} = 0,86$ y $P_{90} = 1,43$

El valor mínimo de la muestra es de 0,51 y el máximo es 1,46, lo que arroja un rango de 0,95 centipoise.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la izquierda y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la **viscosidad de la vena umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 28 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 1,29; mediana = 1,19 y moda = 1,15

- de variación:

DE = 0,44; EEM = 0,08; $P_{10} = 1,01$ y $P_{90} = 1,51$

El valor mínimo de la muestra es de 0,90 y el máximo es 3,40, lo que arroja un rango de 2,50 centipoise.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es casi asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptualizar de mesocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** en la viscosidad de la vena umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón (**Figura 4.2**).

Estadísticos de la viscosidad de la vena umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	43	N válidos	28
Media	1,13	Media	1,21
Error típ. de la media	,03	Error típ. de la media	,030
Mediana	1,15	Mediana	1,20
Moda	,99	Moda	1,15
Desv. típ.	,21	Desv. típ.	,159
Asimetría	-,73	Asimetría	2,01
Error típ. de asimetría	,36	Error típ. de asimetría	,45
Curtosis	,50	Curtosis	7,34
Error típ. de curtosis	,70	Error típ. de curtosis	,872
Rango	,95	Rango	,91
Mínimo	,51	Mínimo	,90
Máximo	1,46	Máximo	1,81
Percentil 10	,86	Percentil 10	1,09
Percentil 90	1,43	Percentil 90	1,36

Viscosidad de la vena umbilical según tipo de ligadura

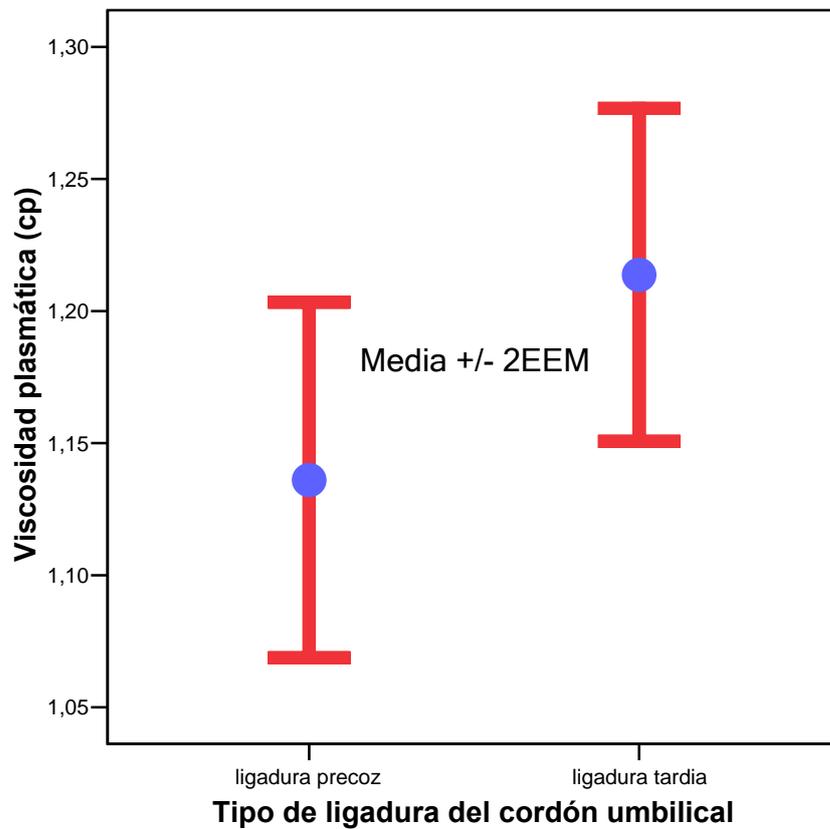


Fig. 4.2

Test "U" de Mann y Whitney : 493,0

Z: -1,06 (p < 0,29)

Al considerar la **viscosidad de la arteria umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 11 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 1,18; mediana = 1,20 y moda = 1,10

- de variación:

DE = 0,09; EEM = 0,02; $P_{10} = 1,05$ y $P_{90} = 1,32$

El valor mínimo de la muestra es de 1,02 y el máximo es 1,34, lo que arroja un rango de 0,32 centipoise.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la izquierda y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de mesocúrtica.

Al considerar la **viscosidad de la arteria umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 11 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 1,27; mediana = 1,25 y moda = 1,15

- de variación:

DE = 0,27; EEM = 0,82; $P_{10} = 0,95$ y $P_{90} = 1,82$

El valor mínimo de la muestra es de 0,95 y el máximo es 1,82, lo que arroja un rango de 0,93 centipoise.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es casi asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptualizar de mesocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** en la viscosidad de la arteria umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón (**Figura 4.3**).

Estadísticos de la viscosidad de la arteria umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	11	N válidos	11
Media	1,18	Media	1,27
Error típ. de la media	,02	Error típ. de la media	,082
Mediana	1,20	Mediana	1,25
Moda	1,10	Moda	1,15
Desv. típ.	,09	Desv. típ.	,271
Asimetría	-,04	Asimetría	1,08
Error típ. de asimetría	,66	Error típ. de asimetría	,66
Curtosis	-,76	Curtosis	1,19
Error típ. de curtosis	1,27	Error típ. de curtosis	1,28
Rango	,32	Rango	,93
Mínimo	1,02	Mínimo	,94
Máximo	1,34	Máximo	1,87
Percentil 10	1,05	Percentil 10	,95
Percentil 90	1,32	Percentil 90	1,82

Viscosidad de arteria umbilical según tipo de ligadura

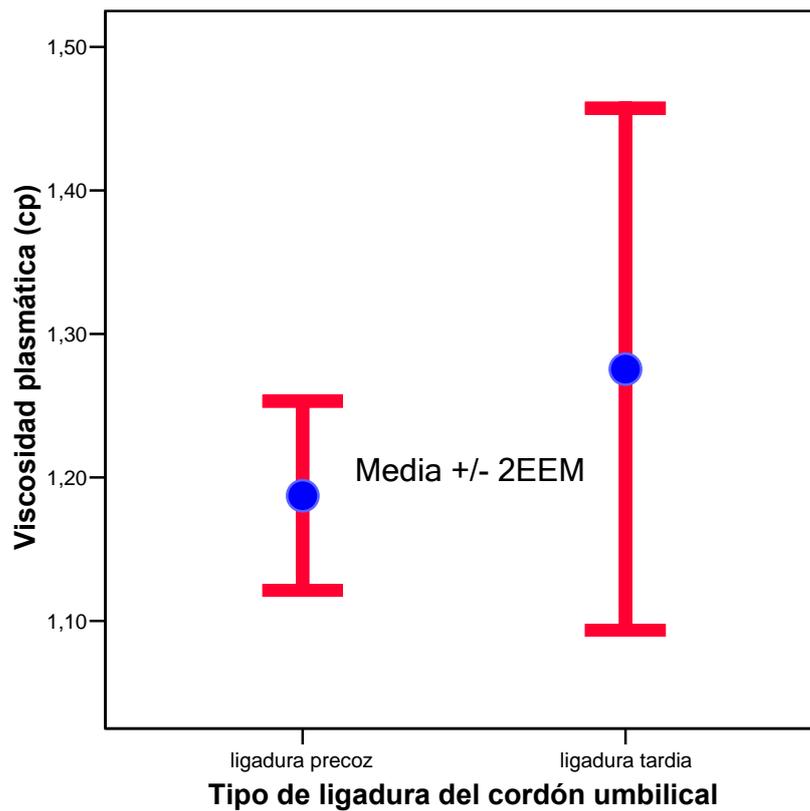


Fig. 4.3

Test "U" de Mann y Whitney : 49,50

Z: -0,72 (p < 0,478)

Al considerar la **viscosidad de la vena umbilical**, la muestra se compone de un total de 71 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 1,20; mediana = 1,17 y moda = 1,20

- de variación:

DE = 0,33; EEM = 0,04; $P_{10} = 0,92$ y $P_{90} = 1,44$

El valor mínimo de la muestra es de 0,51 y el máximo es 3,40; lo que arroja un rango de 2,89 centipoise.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la izquierda y, por el grado de "agudeza", se puede calificar de mesocúrtica.

Al considerar la **viscosidad de la arteria umbilical**, la muestra se compone de un total de 22 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 1,30; mediana = 1,21 y moda = 1,10

- de variación:

DE = 0,43; EEM = 0,09; $P_{10} = 0,99$ y $P_{90} = 1,79$

El valor mínimo de la muestra es de 0,94 y el máximo es 3,00; lo que arroja un rango de 2,06 centipoise.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es casi asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede conceptualizar de mesocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes "U" de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** en la viscosidad cuando comparamos las muestras de vena y arteria umbilical (**Figura 4.4**).

Estadísticos de la viscosidad de la vena y la arteria umbilical

Vena umbilical		Arteria umbilical	
N válidos	71	N válidos	22
Media	1,20	Media	1,30
Error típ. de la media	,04	Error típ. de la media	,09
Mediana	1,17	Mediana	1,21
Moda	1,20	Moda	1,10
Desv. típ.	,33	Desv. típ.	,43
Asimetría	4,13	Asimetría	3,39
Error típ. de asimetría	,29	Error típ. de asimetría	,49
Curtosis	27,99	Curtosis	12,37
Error típ. de curtosis	,56	Error típ. de curtosis	,95
Rango	2,89	Rango	2,06
Mínimo	,51	Mínimo	,94
Máximo	3,40	Máximo	3,00
Percentil 10	,92	Percentil 10	,99
Percentil 90	1,44	Percentil 90	1,79

Viscosidad según el vaso umbilical

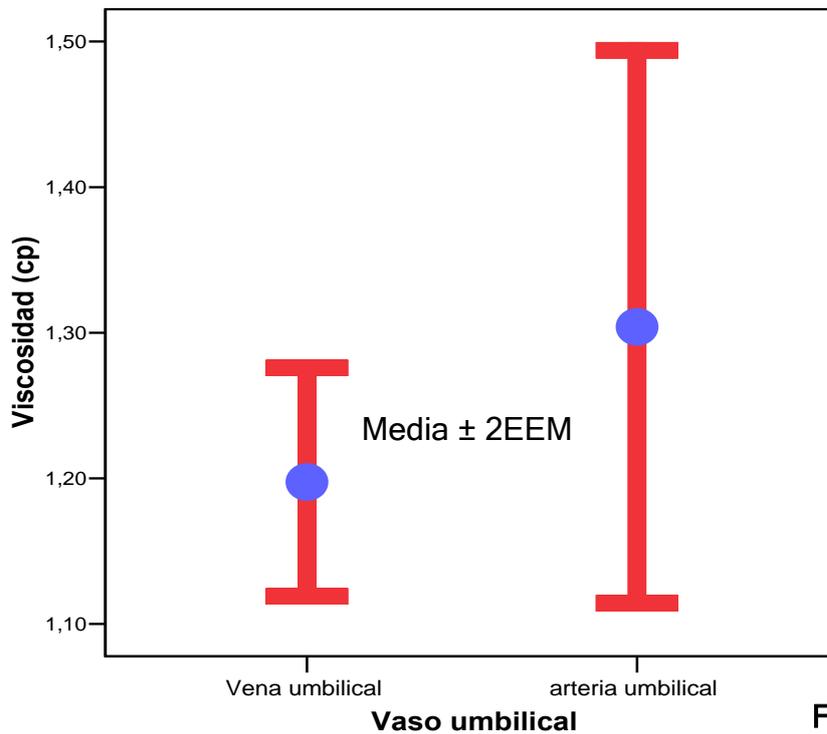


Figura 4.4

Test "U" de Mann y Whitney : 697,0

Z: -0,76 (p < 0,447)

Estudio del comportamiento de los estimadores que componen la bioquímica general, según el tipo de ligadura del cordón umbilical .-

En la muestra de ligadura de cordón precoz (n = 55 casos) analizamos los componentes de la bioquímica general y los comparamos con los obtenidos en la muestra de ligadura de cordón tardía (n = 40 casos). Este ha sido el resultado:

- **Glucosa:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,94$) (Figura 4.5).

- **Urea:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,09$) (Figura 4.5).

- **Creatinina:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,19$) (Figura 4.5).

- **Bilirrubina Total:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,18$) (Figura 4.5).

- **Bilirrubina Indirecta:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,39$) (Figura 4.5).

- **Bilirrubina directa:** no se ha podido demostrar que es diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,12$) (Figura 4.5).

- **Proteínas Totales:** no se ha podido demostrar que sea diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,13$) (Figura 4.5).

- **Fibrinógeno:** no se ha podido demostrar que es diferente la muestra de ligadura precoz y la de ligadura tardía ($p < 0,28$) (Figura 4.5).

ESTUDIO DE LA BIOQUÍMICA GENERAL EN VENA UMBILICAL
Según el tipo de ligadura de cordón

PARÁMETRO	n	Media	D.S.	T. "U" Mann-Whitney z	"p"
GLUCOSA (mg/dl)	55	79,8	22,7	-0,72	< 0,94
	40	78,4	17,4		
UREA (mg/dl)	55	17,7	4,8	-1,68	< 0,09
	40	18,9	6,5		
CREATININA (mg/dl)	55	0,72	0,13	-1,30	< 0,19
	40	0,75	0,10		
BILIRRUBINA TOT. (mg/dl)	55	2,1	0,4	-1,32	< 0,18
	40	2,0	0,3		
BILIRRUBINA IND. (mg/dl)	55	1,7	0,4	-0,84	< 0,39
	40	1,6	0,3		
BILIRRUBINA DIR. (mg/dl)	55	0,39	0,16	-1,53	< 0,12
	40	0,34	0,12		
PROTEINAS TOT. (g/dl)	55	5,5	0,50	-1,48	< 0,13
	40	5,4	0,42		
FIBRINÓGENO (mg/dl)	42	194,86	45,55	-1,08	< 0,28
	25	204,68	45,43		

Figura 4.5

La muestra de **ligadura precoz** del cordón umbilical está formada por 79 recién nacidos. A 76 de ellos (96,20 %) se aplicó un **alumbramiento espontáneo** de la placenta y solamente en 3 (3,80 %) se practicó un **alumbramiento manual**.

La muestra de **ligadura tardía** de cordón umbilical está formada por 72 recién nacidos. En 71 casos (98,60 %), en el momento de nacer, tuvieron un **alumbramiento espontáneo** de la placenta y, en el caso restante (1,40%), fue necesario realizar un **alumbramiento manual**.

No se ha podido demostrar asociación estadísticamente significativa (test de Fisher) entre el tipo de ligadura y la forma de producirse el alumbramiento de la placenta (**Figura 4.6**).

	Tipo de Alumbramiento de la placenta		
	espontáneo	Manual	
Ligadura Precoz	76 (92,60)	3 (3,80)	79
Ligadura Tardía	71 (98,60)	1 (1,40)	72
	147	4	

Tipo de alumbramiento placentario según el tipo de ligadura

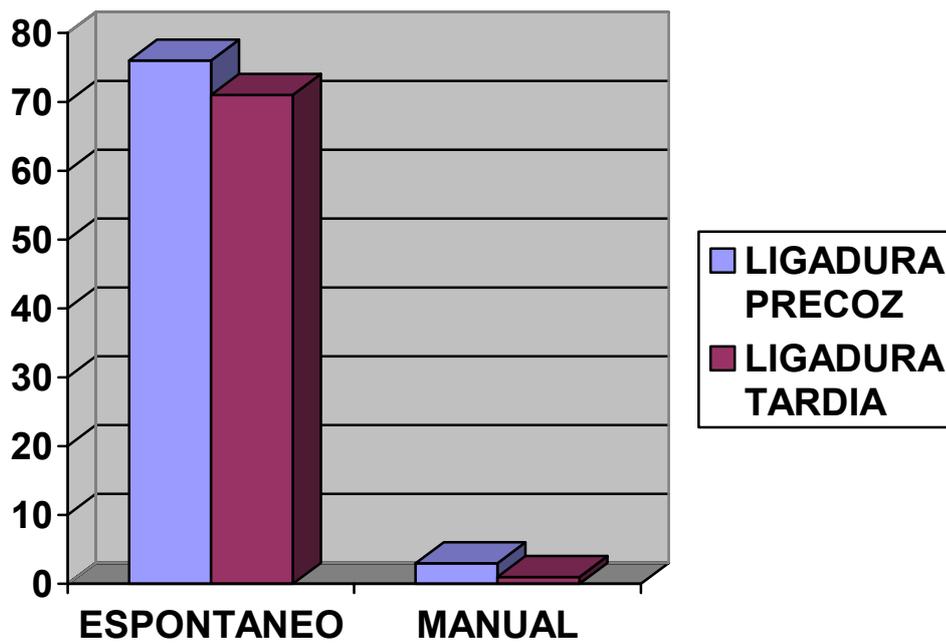


Figura 4.6

Test de FISHER : 0,84

(p = 0,62)

Al considerar la **duración del alumbramiento**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 59 casos, los cuales están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 10,71; mediana = 9,68 y moda = 10,00

- de variación:

DE = 5,84; EEM = 0,76; P_{10} = 5,28 y P_{90} = 16,83

El valor mínimo de la muestra es de 5,0 y el máximo es 35, lo que arroja un rango de 30 minutos.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la izquierda y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la **duración del alumbramiento**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 56 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 10,34; mediana = 10,31 y moda = 10

- de variación:

DE = 5,84; EEM = 0,7; P_{10} = 5,53 y P_{90} = 22,5

El valor mínimo de la muestra es de 5 y el máximo es 20, lo que arroja un rango de 15 minutos.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es casi sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas en la duración del tiempo que duró el alumbramiento** al comparar las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía (**Figura 4.7**).

Estadísticos de la duración del alumbramiento

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	59	N válidos	56
Media	10,71	Media	10,34
Error Est. de la media	,76	Error Est. de la media	,410
Mediana	9,68	Mediana	10,31
Moda	10	Moda	10
Desv. típ.	5,84	Desv. típ.	3,065
Asimetría	2,55	Asimetría	,433
Error típ. de asimetría	,311	Error típ. de asimetría	,319
Curtosis	7,54	Curtosis	1,171
Error típ. de curtosis	,61	Error típ. de curtosis	,628
Rango	30	Rango	15
Mínimo	5	Mínimo	5
Máximo	35	Máximo	20
Percentil 10	5,28	Percentil 10	5,53
Percentil 90	16,83	Percentil 90	14,88

Duración del periodo de alumbramiento

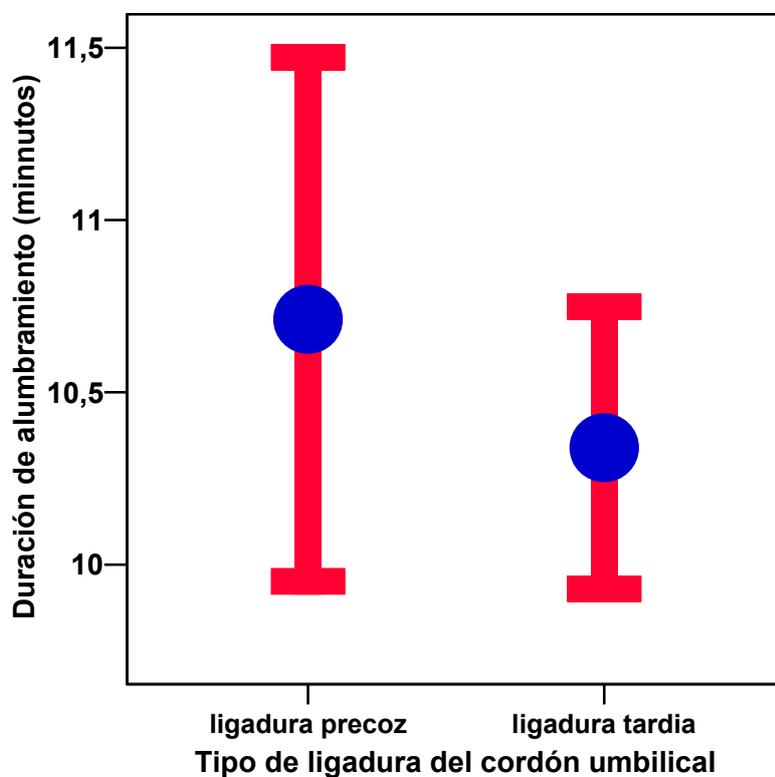


Figura 4.7

Test "U" de Mann y Whitney : 1485,50

Z : - 1,07 (p < 0,28)

Al considerar el valor del **pH de la vena umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 65 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 7,32; mediana = 7,32 y moda = 7,30

- de variación:

DE = 0,05; EEM = 0,006; $P_{10} = 7,27$ y $P_{90} = 7,39$

El valor mínimo de la muestra es de 7,23 y el máximo es 7,46 lo que arroja un rango de 0,23.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como sintótica (muy ligeramente sintótica hacia la derecha) y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica. Se puede afirmar que, los datos obtenidos de pH de la vena umbilical en la muestra de ligadura precoz, se ajustan a una curva normal.

Al considerar el valor del **pH de la vena umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 45 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 7,31; mediana = 7,31 y moda = 7,31

- de variación:

DE = 0,05; EEM = 0,007; $P_{10} = 7,25$ y $P_{90} = 7,36$

El valor mínimo de la muestra es de 7,16 y el máximo es 7,43, lo que arroja un rango de 0,27 unidades de pH.

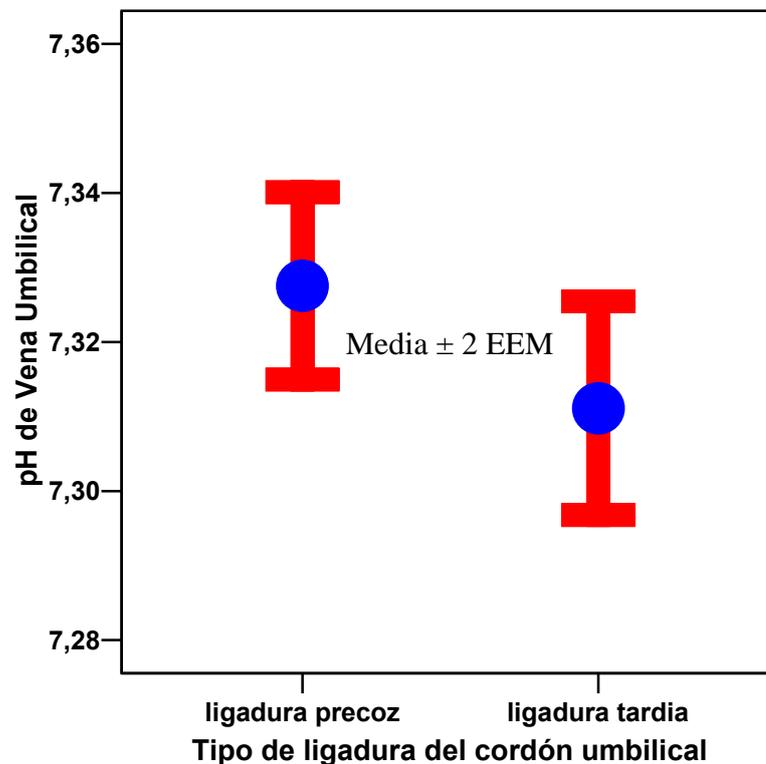
Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica. Se puede afirmar que, los datos obtenidos de pH de la vena umbilical en la muestra de ligadura tardía, se ajustan a una curva normal.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas entre el pH de la vena umbilical** de los recién nacidos correspondiente a cada una de las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía (**Figura 4.8**).

Estadísticos del pH de la vena umbilical

	Ligadura precoz	Ligadura tardía
N válidos	65	45
Media	7,32	7,31
Error típ. de la media	,006	,007
Mediana	7,32	7,31
Moda	7,30	7,31
Desv. típ.	,05	,05
Asimetría	,49	-,56
Error típ. de asimetría	,29	,35
Curtosis	-,05	2,32
Error típ. de curtosis	,58	,69
Rango	,23	,27
Mínimo	7,23	7,16
Máximo	7,46	7,43
Percentil 10	7,27	7,25
Percentil 90	7,39	7,36

pH de vena umbilical y tipo de ligadura



Test "U" de Mann y Whitney : 1.281,5

Z: -1,104 (p < 0,27)

Al considerar el valor de **pH de la arteria umbilical**, la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 56 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 7,24; mediana = 7,24 y moda = 7,19

- de variación:

DE = 0,08; EEM = 0,01; $P_{10} = 7,18$ y $P_{90} = 7,34$

El valor mínimo de la muestra es de 6,76 y el máximo es 7,38 lo que arroja un rango de 0,62.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la izquierda y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar el valor del **pH de la arteria umbilical**, la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 45 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 7,24; mediana = 7,25 y moda = 7,22

- de variación:

DE = 0,06; EEM = 0,01; $P_{10} = 7,18$ y $P_{90} = 7,31$

El valor mínimo de la muestra es de 6,96 y el máximo es 7,43 lo que arroja un rango de 0,47 unidades de pH.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es muy ligeramente asintótica a la izquierda y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** entre el pH de la arteria umbilical de los recién nacidos correspondiente a cada una de las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía (**Figura 4.9**).

Estadísticos del pH de la arteria umbilical

	Ligadura precoz		Ligadura tardía
N válidos	56	N válidos	45
N perdidos	23	N perdidos	27
Media	7,24	Media	7,24
Error típ. de la media	,01	Error típ. de la media	,01
Mediana	7,24	Mediana	7,25
Moda	7,19	Moda	7,22
Desv. típ.	,08	Desv. típ.	,06
Asimetría	-2,87	Asimetría	-1,23
Error típ. de asimetría	,31	Error típ. de asimetría	,35
Curtosis	15,84	Curtosis	6,82
Error típ. de curtosis	,62	Error típ. de curtosis	,69
Rango	,62	Rango	,47
Mínimo	6,76	Mínimo	6,96
Máximo	7,38	Máximo	7,43
Percentil 10	7,18	Percentil 10	7,18
Percentil 90	7,34	Percentil 90	7,31

pH de la arteria umbilical según tipo de ligadura

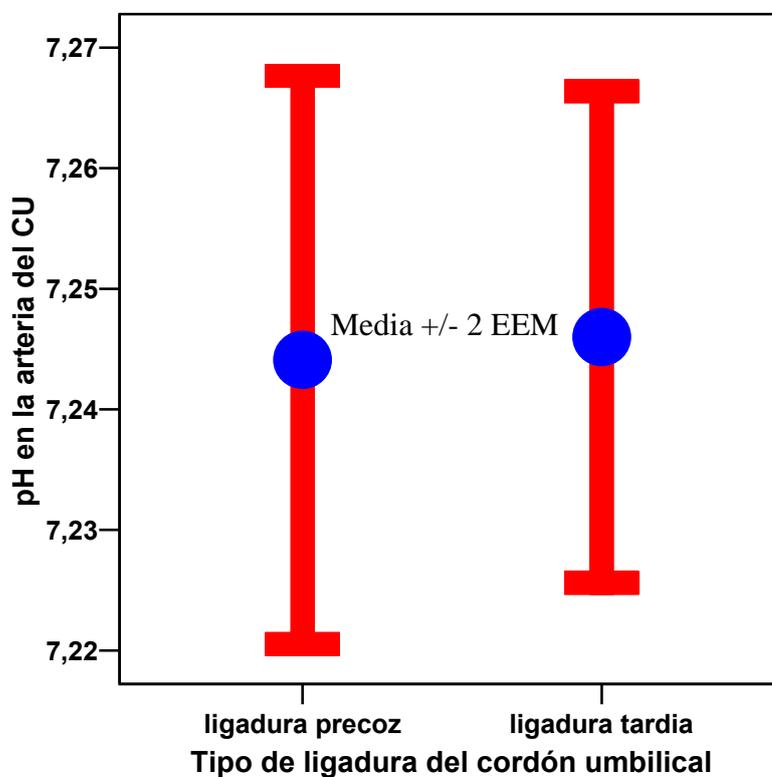


Figura 4.9

Test "U" de Mann y Whitney : 1244,5

Z: - 0,106 (p < 0,91)

Al considerar el valor de la pO_2 de la vena umbilical, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 65 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 25,8; mediana = 26,8 y moda = 27

- de variación:

DE = 5,55; EEM = 0,68; $P_{10} = 17,8$ y $P_{90} = 32,7$

El valor mínimo de la muestra es de 9 y el máximo es 36 lo que arroja un rango de 27.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como muy ligeramente asintótica hacia la izquierda y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar el valor de la pO_2 de la vena umbilical, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 51 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 24,8; mediana = 25,1 y moda = 27

- de variación:

DE = 5,47; EEM = 0,76; $P_{10} = 20,0$ y $P_{90} = 31,2$

El valor mínimo de la muestra es de 12 y el máximo es 41, lo que arroja un rango de 0,29 mmHg.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** entre el pH de la vena umbilical de los recién nacidos correspondiente a cada una de las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía (**Figura 4.10**).

Estadísticos de la pO_2 de vena umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	65	N válidos	51
Media	25,88	Media	24,82
Error típ. de la media	,68	Error típ. de la media	,76
Mediana	26,85	Mediana	25,11
Moda	27	Moda	27
Desv. típ.	5,55	Desv. típ.	5,47
Asimetría	-,55	Asimetría	,04
Error típ. de asimetría	,29	Error típ. de asimetría	,33
Curtosis	-,06	Curtosis	1,62
Error típ. de curtosis	,58	Error típ. de curtosis	,65
Rango	27	Rango	29
Mínimo	9	Mínimo	12
Máximo	36	Máximo	41
Percentil 10	17,86	Percentil 10	20,03
Percentil 90	32,67	Percentil 90	31,20

Presión parcial de oxígeno en vena umbilical

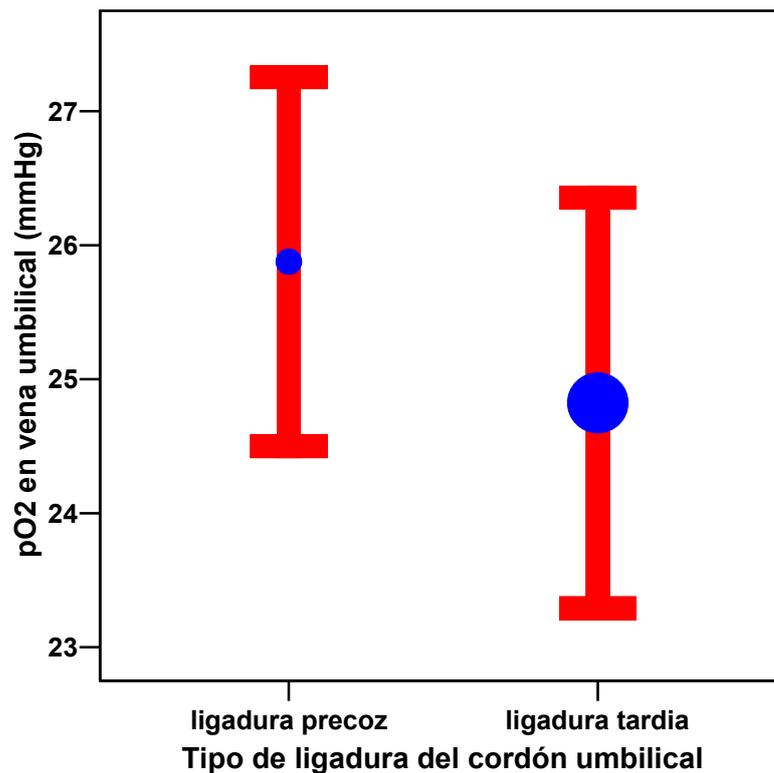


Figura 4.10

Test "U" de Mann y Whitney : 1.406,0

Z: - 1,40 (p < 0,160)

Al considerar la **pO₂ de la arteria umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 55 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 17,00; mediana = 17,31 y moda = 18

- de variación:

DE = 4,01; EEM = 0,54; P₁₀ = 11,57 y P₉₀ = 20,83

El valor mínimo de la muestra es de 9 y el máximo es 30, lo que arroja un rango de 21 mmHg.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de mesoocúrtica.

Al considerar la **pO₂ de la arteria umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 44 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 23,0; mediana = 23,50 y moda = 23

- de variación:

DE = 4,09; EEM 0,62; P₁₀ = 16,5 y P₉₀ = 27,0

El valor mínimo de la muestra es de 12 y el máximo es 31, lo que arroja un rango de 19 mmHg.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es casi asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptualizar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **sí se ha podido demostrar diferencias significativas** en el pO₂ de la arteria umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón (**Figura 4.11**).

Estadísticos de la pO₂ de la arteria umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	55	N válidos	44
Media	17,00	Media	23,00
Error típ. de la media	,54	Error típ. de la media	,62
Mediana	17,31	Mediana	23,50
Moda	18	Moda	23
Desv. típ.	4,01	Desv. típ.	4,09
Asimetría	,47	Asimetría	-1,00
Error típ. de asimetría	,32	Error típ. de asimetría	,36
Curtosis	1,54	Curtosis	1,13
Error típ. de curtosis	,63	Error típ. de curtosis	,72
Rango	21	Rango	19
Mínimo	9	Mínimo	12
Máximo	30	Máximo	31
Percentil 10	11,57	Percentil 10	16,50
Percentil 90	20,83	Percentil 90	27,00

pO₂ de arteria umbilical según tipo de ligadura

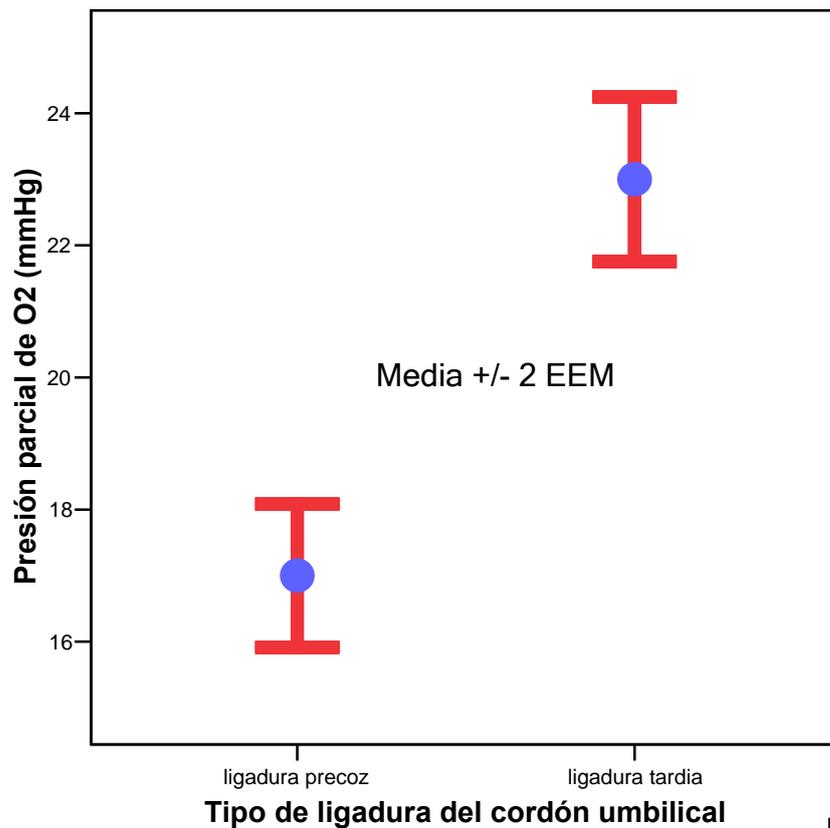


Figura 4.11

Test "U" de Mann y Whitney : 357

Z: -6,023 (p < 0,0005)

Al considerar el valor de la **pCO₂ de la vena umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 65 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 38,4; mediana = 38,3 y moda = 38

- de variación:

DE = 4,62; EEM = 0,57; P₁₀ = 33,1 y P₉₀ = 45,20

El valor mínimo de la muestra es de 22 y el máximo es 50 lo que arroja un rango de 28.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica. La distribución de los valores de pCO₂ en la ligadura precoz de cordón se ajusta a la curva normal.

Al considerar el valor de la **pCO₂ de la vena umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 51 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 38,9; mediana = 39,7 y moda = 40

- de variación:

DE = 5,87; EEM = 0,82; P₁₀ = 30,4 y P₉₀ = 45,6

El valor mínimo de la muestra es de 25 y el máximo es 52, lo que arroja un rango de 27 mmHg.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es muy ligeramente asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** entre el pCO₂ de la vena umbilical de los recién nacidos correspondiente a cada una de las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía (**Figura. 4.12**).

Estadísticos de la pCO₂ de vena umbilical

	Ligadura precoz	Ligadura tardía
N válidos	65	51
N perdidos	14	21
Media	38,43	38,94
Error típ. de la media	,57	,82
Mediana	38,39	39,73
Moda	38	40
Desv. típ.	4,62	5,87
Asimetría	-,21	-,13
Error típ. de asimetría	,29	,33
Curtosis	1,67	-,20
Error típ. de curtosis	,58	,65
Rango	28	27
Mínimo	22	25
Máximo	50	52
Percentil 10	33,11	30,40
Percentil 90	45,20	45,60

pCO₂ de vena umbilical según tipo de ligadura

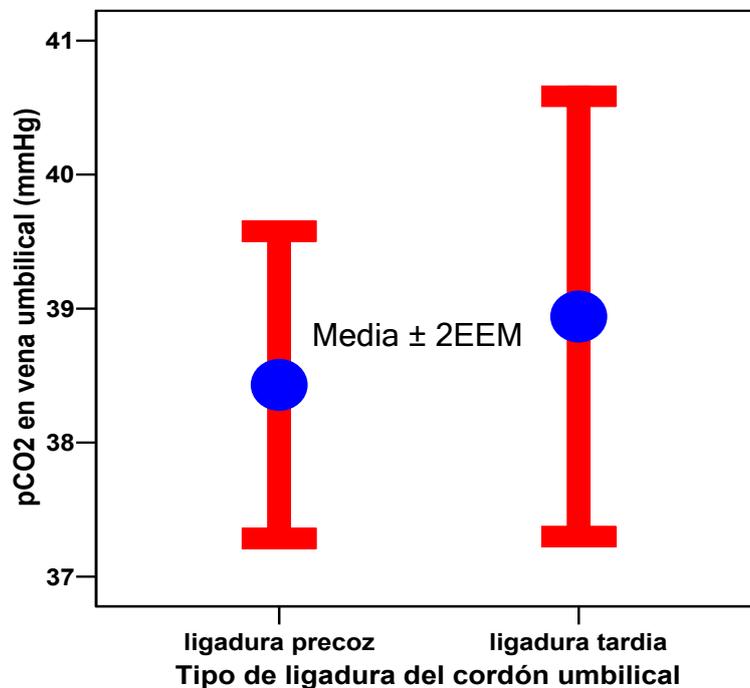


Figura 4.12

Test "U" de Mann y Whitney : 1524,0

Z: - 0,744 (p < 0,45)

Al considerar la **pCO₂ de la arteria umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 55 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 46,18; mediana = 45,0 y moda = 38

- de variación:

DE = 11,28; EEM = 1,52; P₁₀ = 37,29 y P₉₀ = 59,50

El valor mínimo de la muestra es de 13 y el máximo es 91, lo que arroja un rango de 78 mmHg.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como ligeramente asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la **pCO₂ de la arteria umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 44 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 49,27; mediana = 49,50 y moda = 57

- de variación:

DE = 10,32; EEM = 1,55; P₁₀ = 35,20 y P₉₀ = 60,91

El valor mínimo de la muestra es de 27 y el máximo es 70, lo que arroja un rango de 31 mmHg.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es casi sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de platicúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** en la pCO₂ de la arteria umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón (**Fig. 4.13**).

Estadísticos de la pCO₂ de la arteria umbilical

	Ligadura precoz	Ligadura tardía	
N válidos	55	N válidos	44
N perdidos	24	N perdidos	28
Media	46,18	Media	49,27
Error típ. de la media	1,52	Error típ. de la media	1,55
Mediana	45,00	Mediana	49,50
Moda	38	Moda	57
Desv. típ.	11,28	Desv. típ.	10,32
Asimetría	,60	Asimetría	-,24
Error típ. de asimetría	,32	Error típ. de asimetría	,35
Curtosis	5,05	Curtosis	-,79
Error típ. de curtosis	,64	Error típ. de curtosis	,70
Rango	78	Rango	43
Mínimo	13	Mínimo	27
Máximo	91	Máximo	70
Percentil 10	37,29	Percentil 10	35,20
Percentil 90	59,50	Percentil 90	60,91

pCO₂ de arteria umbilical y tipo de ligadura

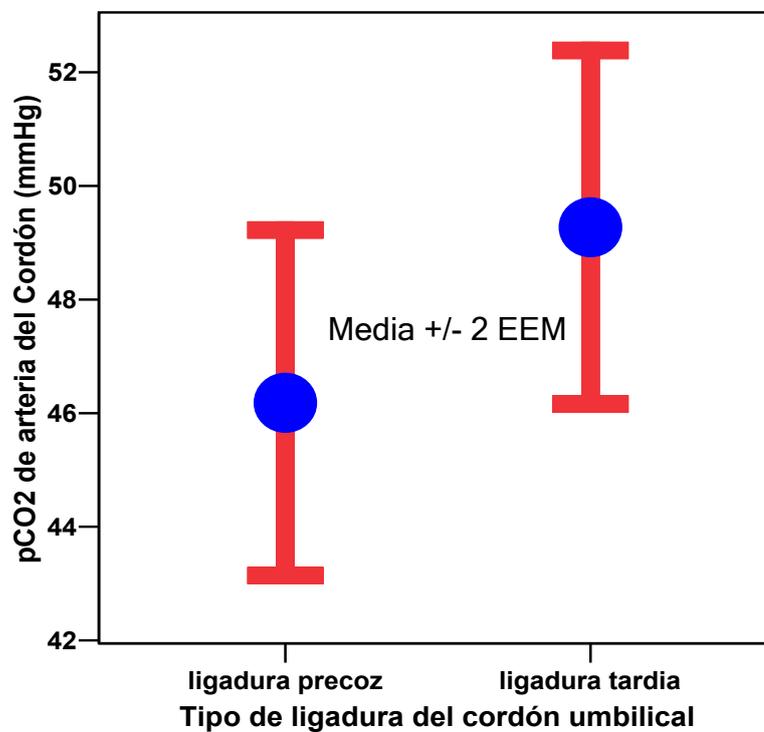


Figura 4.13

Test "U" de Mann y Whitney : 978,5

Z: - 1,63 (p < 0,103)

Al considerar el valor de la $[\text{HCO}_3^-]$ de la vena umbilical, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 65 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 38,4; mediana = 38,3 y moda = 38

- de variación:

DE = 4,62; EEM = 0,57; P_{10} = 33,1 y P_{90} = 45,20

El valor mínimo de la muestra es de 22 y el máximo es 50 lo que arroja un rango de 28.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como sintótica y, por el grado de "agudeza", se puede calificar de leptocúrtica. La distribución de los valores de $[\text{HCO}_3^-]$ en la ligadura precoz de cordón se ajusta a la curva normal.

Al considerar el valor de la $[\text{HCO}_3^-]$ de la vena umbilical, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 51 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 38,9; mediana = 39,7 y moda = 40

- de variación:

DE = 5,87; EEM = 0,82; P_{10} = 30,4 y P_{90} = 45,6

El valor mínimo de la muestra es de 25 y el máximo es 52, lo que arroja un rango de 27 mEq/l.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que ésta es muy ligeramente asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes "U" de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** entre el $[\text{HCO}_3^-]$ de la arteria umbilical de los recién nacidos correspondiente a cada una de las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía (**Figura 4.14**).

Estadísticos de $[\text{HCO}_3^-]$ de la vena umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	65	N válidos	51
Media	20,89	Media	20,57
Error típ. de la media	,347	Error típ. de la media	,41
Mediana	20,55	Mediana	20,59
Moda	20	Moda	21
Desv. típ.	2,79	Desv. típ.	2,97
Asimetría	2,39	Asimetría	1,98
Error típ. de asimetría	,29	Error típ. de asimetría	,33
Curtosis	12,56	Curtosis	10,38
Error típ. de curtosis	,58	Error típ. de curtosis	,65
Rango	21	Rango	21
Mínimo	15	Mínimo	14
Máximo	36	Máximo	35
Percentil 10	18,0	Percentil 10	17,15
Percentil 90	23,88	Percentil 90	23,23

Bicarbonato en vena umbilical según tipo de ligadura

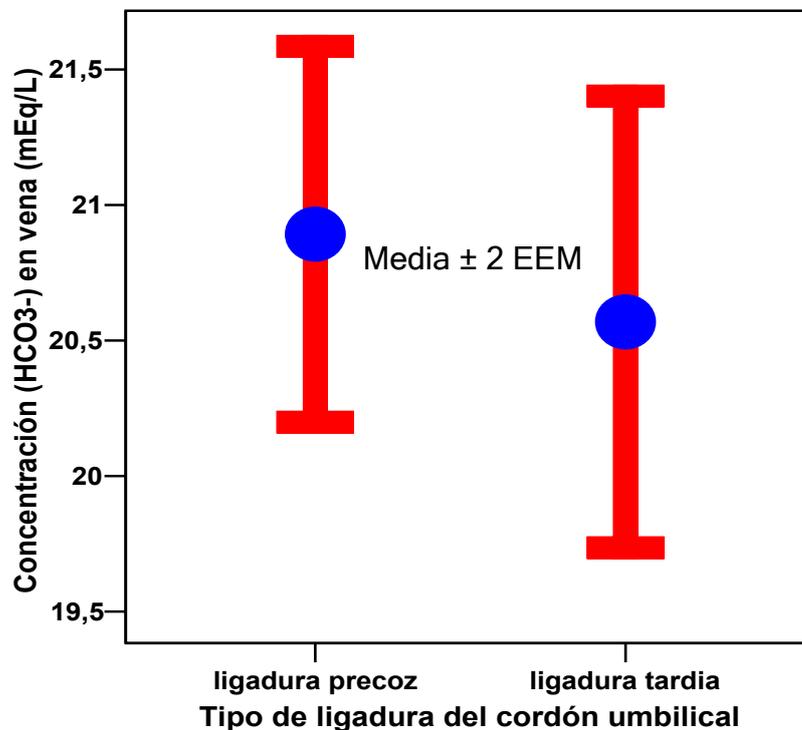


Figura 4.14

Test "U" de Mann y Whitney : 1.590,0

Z: -,379 (p < 0,705)

Al considerar la $[\text{HCO}_3^-]$ de la **arteria umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 55 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 20,51; mediana = 20,47 y moda = 20

- de variación:

DE = 3,07; EEM = 0,41; P_{10} = 16,4 y P_{90} = 24,33

El valor mínimo de la muestra es de 13 y el máximo es 27, lo que arroja un rango de 14 mEq/l.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de mesocúrtica.

Al considerar la $[\text{HCO}_3^-]$ de la **arteria umbilical**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 44 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 21,34; mediana = 20,73 y moda = 20

- de variación:

DE = 3,21; EEM = 0,48; P_{10} = 17,20 y P_{90} = 24,91

El valor mínimo de la muestra es de 16 y el máximo es 30, lo que arroja un rango de 14 mEq/l.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es casi asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de platicúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** en la $[\text{HCO}_3^-]$ de la arteria umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón (**Figura 4.15**).

Estadísticos de $[\text{HCO}_3^-]$ de la arteria umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	55	N válidos	44
Media	20,51	Media	21,34
Error típ. de la media	,41	Error típ. de la media	,48
Mediana	20,47	Mediana	20,73
Moda	20	Moda	20
Desv. típ.	3,07	Desv. típ.	3,21
Asimetría	-,17	Asimetría	,63
Error típ. de asimetría	,32	Error típ. de asimetría	,35
Curtosis	-,15	Curtosis	,75
Error típ. de curtosis	,63	Error típ. de curtosis	,70
Rango	14	Rango	14
Mínimo	13	Mínimo	16
Máximo	27	Máximo	30
Percentil 10	16,40	Percentil 10	17,20
Percentil 90	24,33	Percentil 90	24,92

$[\text{HCO}_3^-]$ de la arteria umbilical

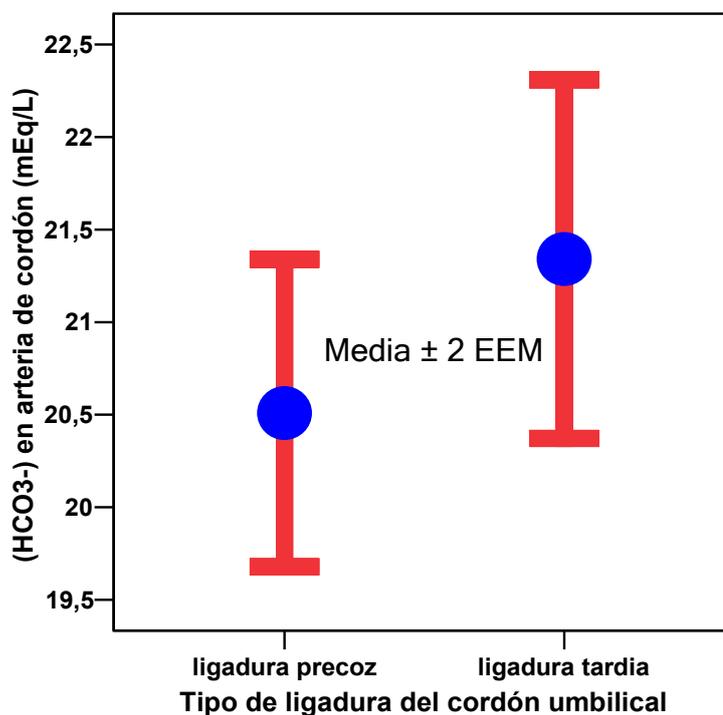


Figura 4.15

Test "U" de Mann y Whitney : 1.074

Z: -0,965 (p < 0,335)

La muestra de **ligadura precoz** del cordón umbilical está formada por 79 recién nacidos. A 67 de ellos (84,8 %), en el momento de nacer, se les aplicó una **reanimación básica** (tipo I). Para los 12 casos restantes (15,2 %), se utilizó una **reanimación tipo II** y junto a ello fue necesario administrar, en paritorio, oxígeno en carpa.

La muestra de **ligadura tardía** de cordón umbilical está formada por 72 recién nacidos. En 69 casos (95,80 %) de ellos , en el momento de nacer, se les aplicó una **reanimación básica** (tipo I) y para los 3 nacidos restantes (4,20 %) se empleó una **reanimación tipo II** y junto a ello fue necesario administrar, en paritorio, oxígeno en carpa.

Se ha podido demostrar **asociación estadísticamente significativa** (test de Fisher) entre tipo de ligadura y forma de reanimación aplicada al recién nacido, en el sentido de asociarse más la reanimación neonatal con oxígeno en los casos de ligadura precoz del cordón umbilical (**Fig. 4.16**).

	Tipo de Reanimación del RN		
	Tipo I	Tipo I + oxígeno	
Ligadura precoz	67 (84,8)	12 (15,2)	79
Ligadura tardía	69 (95,8)	3 (4,2)	72
	53	8	151

Reanimación del Recién Nacido según el Tipo de ligadura de cordón

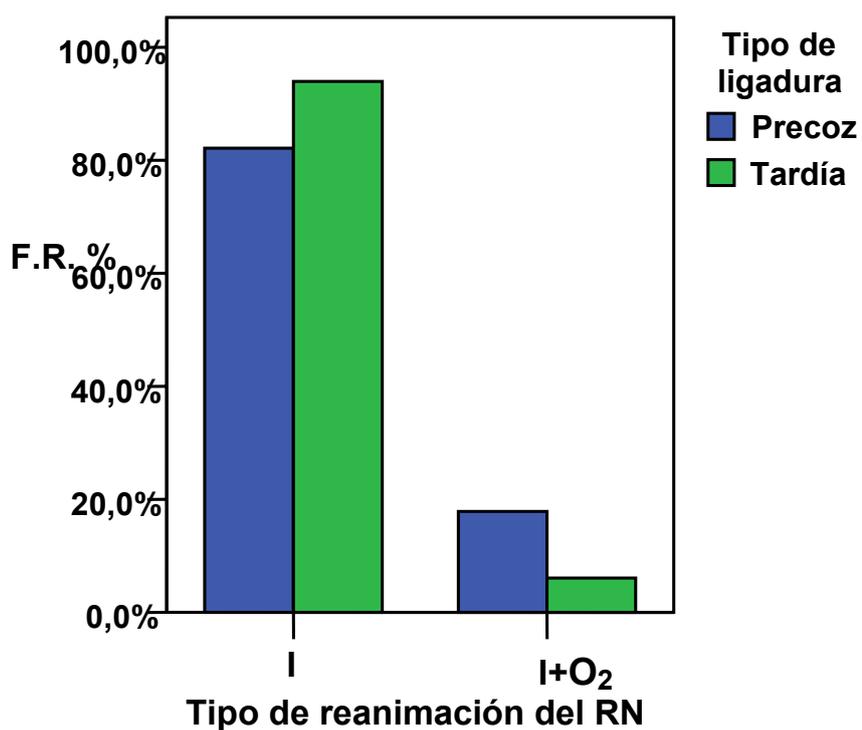


Figura 4.16

Test de FISHER : 5,23

p = 0,022

Al considerar el **peso del recién nacido**, la muestra correspondiente a **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 79 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 3.251; mediana = 3.236 y moda = 3.000

- de variación:

DE = 406,49; EEM = 45,73; $P_{10} = 2.803,2$ y $P_{90} = 3.704,0$

El valor mínimo de la muestra es de 2.130 y el máximo es 4.470 lo que arroja un rango de 2.340 gr.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar el **peso del recién nacido**, la muestra correspondiente a **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 72 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 3.220; mediana = 3.195 y moda = 3.100

- de variación:

DE = 406,49; EEM = 45,73; $P_{10} = 2.700$ y $P_{90} = 3.622$

El valor mínimo de la muestra es de 2.464 y el máximo es 4.150, lo que arroja un rango de 1.686 gr.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, **no se ha podido demostrar diferencias significativas** en peso de los recién nacidos correspondiente a cada una de las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía (**Figura 4.17**).

Estadísticos del peso del recién nacido

	Ligadura precoz	Ligadura tardía	
N válidos	79	N válidos	72
Media	3251,1	Media	3220,3
Error típ. de la media	45,73	Error típ. de la media	42,69
Mediana	3236,0	Mediana	3195,0
Moda	3000	Moda	3100
Desv. típ.	406,49	Desv. típ.	362,29
Asimetría	,58	Asimetría	,19
Error típ. de asimetría	,27	Error típ. de asimetría	,28
Curtosis	1,28	Curtosis	,43
Error típ. de curtosis	,53	Error típ. de curtosis	,55
Rango	2340	Rango	1686
Mínimo	2130	Mínimo	2464
Máximo	4470	Máximo	4150
Percentil 10	2803,2	Percentil 10	2700
Percentil 90	3704,0	Percentil 90	3622

Peso del Recién Nacido

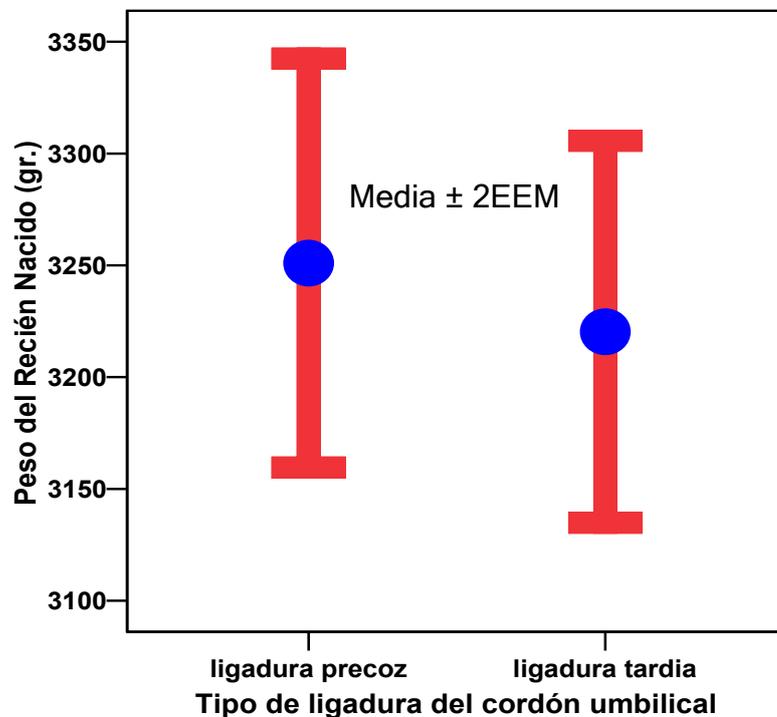


Figura 4.17

Test "U" de Mann y Whitney : 2.788,0

Z: - 0,209 p < 0,835

La muestra de **ligadura precoz** del cordón umbilical está formada por 79 recién nacidos. En 73 de ellos (92,4%), no se produjo ninguna patología. En 6 casos (7,6%) sí encontramos patología, que siempre fue la misma: soplo funcional (3 casos, 3,8%) y en los tres restantes (3,8%) se detectó ictericia.

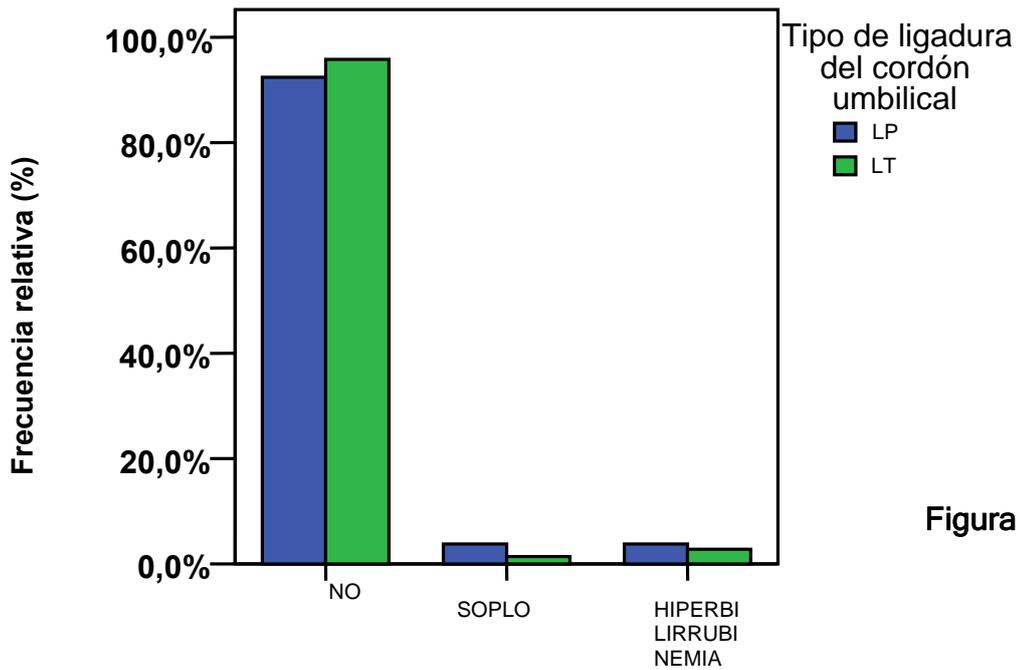
La muestra de **ligadura tardía** del cordón umbilical está formada por 72 recién nacidos. En 69 de ellos (96,8 %), no se produjo tipo alguno de patología. En 3 casos (4,2%) se produjo patología: 1 caso de soplo funcional (1,4%) y en los 2 restantes (2,8%) se detectó ictericia.

No se ha podido demostrar asociación estadísticamente significativa mediante el test de Fisher entre tipo de ligadura y la presencia o no de patología en el recién nacido (**Figura 4.18**).

Patología del recién nacido

	NO	SOPLO	ICTERICIA	
Ligadura precoz	73 (92,4 %)	3 (3,8%)	3 (3,8%)	79
Ligadura tardía	69 (96,8 %)	1 (1,4%)	2 (2,8%)	72
	142	9		

Patología del Recién Nacido, según el tipo de ligadura



Patología del RN

Test de Fisher = 2,97
(p = 0,07)

Al considerar la **melatonina** en sangre de la **vena umbilical**, la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 27 casos, los que están representados con las siguientes medidas, expresadas en pg/ml de melatonina:

- de tendencia central:

media = 5,48; mediana = 2,14 y moda = 1,87

- de variación:

DE = 6,37; EEM = 1,22; P_{10} = 1,36 y P_{90} = 14,01

El valor mínimo de la muestra es de 1,18 y el máximo es 25,57, lo que arroja un rango de 24,39 pg/ ml de melatonina.

Al ajustar los datos de esta muestra vemos que no se ajusta a una curva normal, observando que es asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la **melatonina** en sangre de la **vena umbilical**, la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 27 casos, los que están representados con las siguientes medidas, expresadas en pg/ml de melatonina:

- de tendencia central:

media = 5,23; mediana = 2,69 y moda = 1,58

- de variación:

DE = 5,45; EEM = 1,03; P_{10} = 1,48 y P_{90} = 16,78

El valor mínimo de la muestra es de 1,11 y el máximo es 18,29, lo que arroja un rango de 17,18 pg/ml de melatonina.

Al ajustar los datos de esta muestra vemos que no se ajusta a una curva normal, observando que es asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de cercana a la mesocurtosis.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, en la concentración de melatonina en suero de vena umbilical, **no se han podido demostrar diferencias significativas** entre el tipo de ligadura del cordón umbilical, precoz y tardía (**Figura 4.19**).

Estadísticos de la melatonina en la vena umbilical

	Ligadura precoz	Ligadura tardía	
N válidos	27	N válidos	28
Media	5,48	Media	5,23
Error típ. de la media	1,22	Error típ. de la media	1,03
Mediana	2,14	Mediana	2,69
Moda	1,87	Moda	1,58
Desv. típ.	6,37	Desv. típ.	5,45
Asimetría	1,95	Asimetría	1,57
Error típ. de asimetría	,44	Error típ. de asimetría	,44
Curtosis	3,37	Curtosis	1,16
Error típ. de curtosis	,87	Error típ. de curtosis	,85
Rango	24,39	Rango	17,18
Mínimo	1,18	Mínimo	1,11
Máximo	25,57	Máximo	18,29
Percentil 10	1,36	Percentil 10	1,48
Percentil 90	14,01	Percentil 90	16,78

Melatonina en la vena umbilical según tipo de ligadura

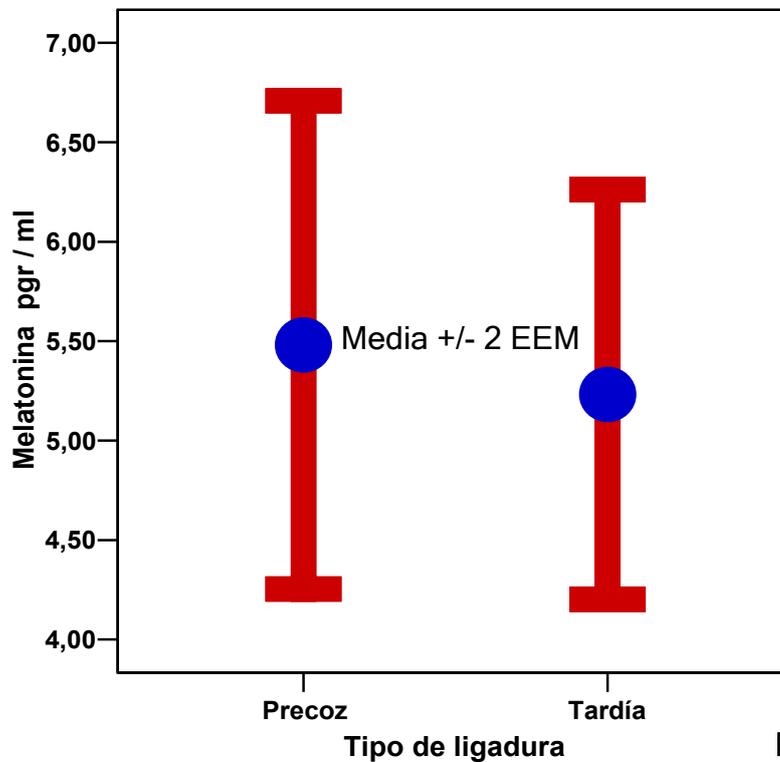


Figura 4.19

Test "U" de Man y Whitney : 372,5,0

Z: - 0,093 (p < 0,926)

Al considerar la **melatonina** en sangre de la **arteria umbilical**, la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón umbilical se compone de un total de 26 casos, los que están representados con las siguientes medidas, expresadas en pg/ml de melatonina:

- de tendencia central:

media = 7,36; mediana = 3,96 y moda = 1,88

- de variación:

DE = 8,14; EEM = 1,59; P_{10} = 2,43 y P_{90} = 25,53

El valor mínimo de la muestra es de 1,88 y el máximo es 27,88, lo que arroja un rango de 25,94 pg/ml de melatonina.

Al ajustar los datos de esta muestra vemos que no se ajusta a una curva normal, observando que es asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de moderadamente leptocúrtica.

Al considerar la **melatonina** en sangre de la **arteria umbilical**, la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón umbilical se compone de un total de 24 casos, los que están representados con las siguientes medidas, expresadas en pg/ml de melatonina:

- de tendencia central:

media = 7,41; mediana = 3,79 y moda = 1,48

- de variación:

DE = 7,44; EEM = 1,52; P_{10} = 1,89 y P_{90} = 21,95

El valor mínimo de la muestra es de 1,48 y el máximo es 22,73, lo que arroja un rango de 21,25 pg/ml de melatonina.

Al ajustar los datos de esta muestra vemos que no se ajusta a una curva normal, observando que es asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de moderadamente leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, en la concentración de melatonina en suero de vena umbilical, **no se han podido demostrar diferencias significativas** entre el tipo de ligadura del cordón umbilical, precoz y tardía (**Figura 4.20**).

Estadísticos de la melatonina en la arteria umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	26	N válidos	24
Media	7,36	Media	7,41
Error típ. de la media	1,59	Error típ. de la media	1,52
Mediana	3,98	Mediana	3,79
Moda	1,88	Moda	1,48
Desv. típ.	8,14	Desv. típ.	7,44
Asimetría	1,97	Asimetría	1,34
Error típ. de asimetría	,45	Error típ. de asimetría	,472
Curtosis	2,47	Curtosis	,181
Error típ. de curtosis	,88	Error típ. de curtosis	,918
Rango	25,94	Rango	21,25
Mínimo	1,88	Mínimo	1,48
Máximo	27,82	Máximo	22,73
Percentil 10	2,43	Percentil 10	1,89
Percentil 90	25,53	Percentil 90	21,95

Melatonina en arteria umbilical

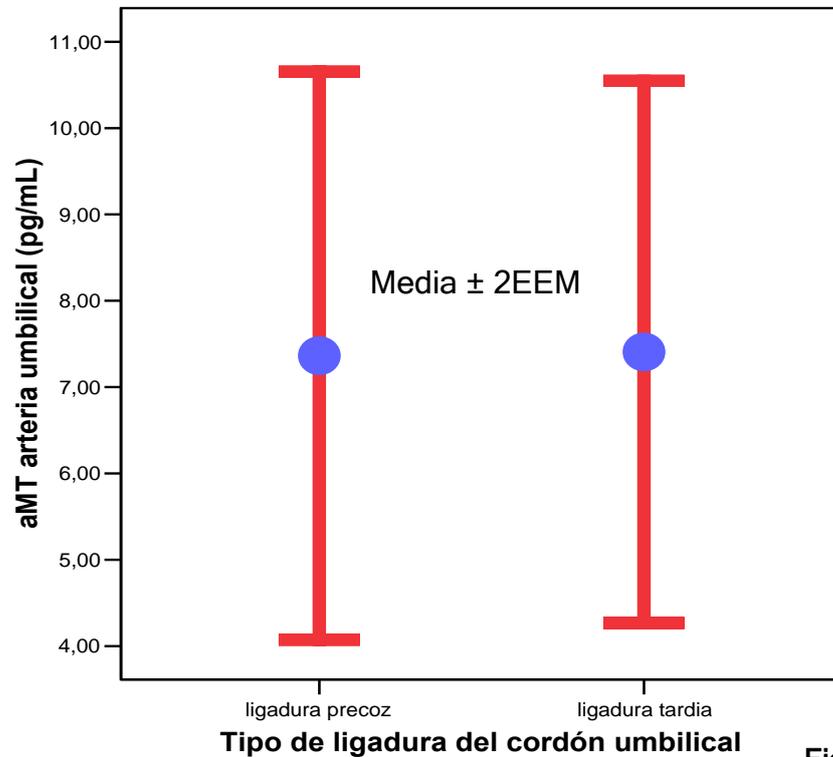


Figura 4.20

Test "U" de Man y Whitney : 284,5

Z: - 0,534 (p < 0,593)

Al considerar la **melatonina** en sangre del cordón umbilical, la muestra correspondiente a la **vena umbilical** se compone de un total de 55 casos, los que están representados con las siguientes medidas, expresadas en pg/ml de melatonina:

- de tendencia central:

media = 5,35; mediana = 2,29 y moda = 1,87

- de variación:

DE = 5,87; EEM = 0,79; P_{10} = 1,45 y P_{90} = 16,60

El valor mínimo de la muestra es de 1,11 y el máximo es 25,57, lo que arroja un rango de 24,46 pg/ml de melatonina.

Al ajustar los datos de esta muestra que no se ajusta a una curva normal, observamos que es asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la **melatonina** en sangre del cordón umbilical, la muestra correspondiente a la **arteria umbilical** se compone de un total de 50 casos, los que están representados con las siguientes medidas, expresadas en pg/ml de melatonina:

- de tendencia central:

media = 7,38; mediana = 3,98 y moda = 2,30

- de variación:

DE = 7,73; EEM = 1,09; P_{10} = 2,22 y P_{90} = 21,95

El valor mínimo de la muestra es de 1,48 y el máximo es 27,82, lo que arroja un rango de 26,34 pg/ml de melatonina.

Al ajustar los datos de esta muestra que no se ajusta a una curva normal, observamos que esta es asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede calificar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes "U" de Mann y Whitney, en la concentración de melatonina en suero de vena y arteria umbilical, **sí se han podido demostrar diferencias significativas** entre la vena y la arteria umbilical (**Figura 4.21**).

Estadísticos de la melatonina en cordón umbilical

Vena umbilical		Arteria umbilical	
N válidos	55	N válidos	50
Media	5,35	Media	7,38
Error típ. de la media	,79	Error típ. de la media	1,09
Mediana	2,29	Mediana	3,98
Moda	1,87	Moda	2,30
Desv. típ.	5,87	Desv. típ.	7,73
Asimetría	1,77	Asimetría	1,66
Error típ. de asimetría	,32	Error típ. de asimetría	,33
Curtosis	2,40	Curtosis	1,34
Error típ. de curtosis	,63	Error típ. de curtosis	,66
Rango	24,46	Rango	26,34
Mínimo	1,11	Mínimo	1,48
Máximo	25,57	Máximo	27,82
Percentil 10	1,45	Percentil 10	2,22
Percentil 90	16,60	Percentil 90	21,95

Melatonina en vena y arteria umbilical

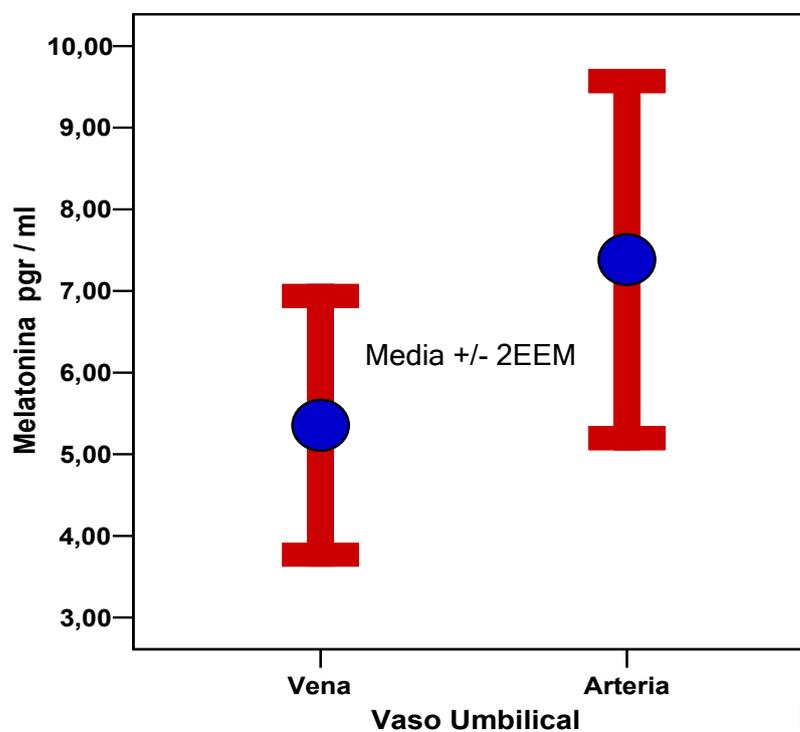


Figura 4.21

Test "U" de Man y Whitney : 919,0

Z: - 2,926 (p < 0,003)

Al considerar la **melatonina en sangre materna**, la muestra correspondiente al **momento del inicio de la dilatación** se compone de un total de 27 casos, los que están representados con las siguientes medidas, expresadas en pg/ml de melatonina:

- de tendencia central:

media = 18,15; mediana = 10,61 y moda = 1,53

- de variación:

DE = 18,38; EEM = 1,37; $P_{10} = 3,27$ y $P_{90} = 45,35$

El valor mínimo de la muestra es de 1,53 y el máximo es 76,13, lo que arroja un rango de 74,60 pg/ ml de melatonina.

Al ajustar los datos de esta muestra que no se ajusta a una curva normal, observamos que esta es asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la **melatonina en sangre materna**, la muestra correspondiente al **periodo de expulsivo**, se compone de un total de 27 casos, los que están representados con las siguientes medidas, expresadas en pg/ml de melatonina:

- de tendencia central:

media = 7,63; mediana = 4,15 y moda = 4,27

- de variación:

DE = 7,16; EEM = 1,37; $P_{10} = 1,34$ y $P_{90} = 17,65$

El valor mínimo de la muestra es de 0,25 y el máximo es 24,50; lo que arroja un rango de 24,25 pg/ ml de melatonina.

Al ajustar los datos de esta muestra que no se ajusta a una curva normal, observamos que esta es asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede calificar de mesocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras dependientes de Wilcoxon, en la concentración en suero materno de melatonina, **sí se han podido demostrar diferencias significativas**, existiendo más melatonina en el suero materno al comienzo de la dilatación que en el periodo expulsivo del parto (**Figura 4. 22**).

(En el gráfico de la página siguiente, las dos barras del gráfico representan, aproximadamente la media ± 2 errores estándar de la media y los dos triángulos representan las medianas de las dos muestras)

Estadísticos de la melatonina en sangre materna

Inicio del parto		Periodo expulsivo	
N válidos	27	N válidos	27
Media	18,15	Media	7,63
Error est. de la media	3,53	Error est. de la media	1,37
Mediana	10,61	Mediana	4,15
Moda	1,53	Moda	4,27
Desv. típ.	18,38	Desv. típ.	7,16
Asimetría	1,54	Asimetría	,99
Error típ. de asimetría	,44	Error típ. de asimetría	,44
Curtosis	2,37	Curtosis	-,07
Error típ. de curtosis	,87	Error típ. de curtosis	,87
Rango	74,60	Rango	24,25
Mínimo	1,53	Mínimo	,25
Máximo	76,13	Máximo	24,50
Percentil 10	3,27	Percentil 10	1,34
Percentil 90	45,35	Percentil 90	17,65

Melatonina en sangre materna según el momento del parto

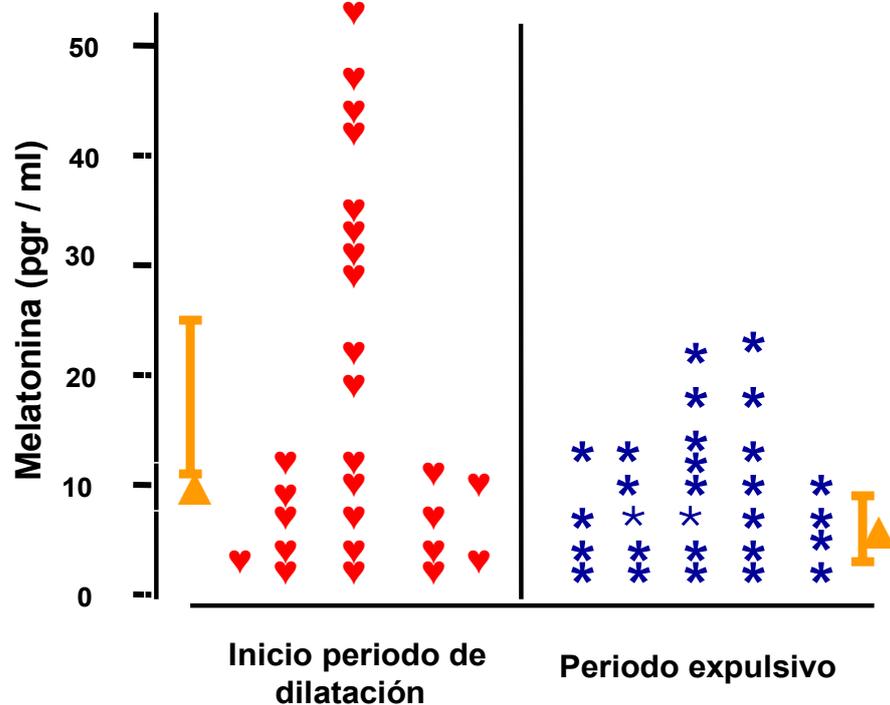


Figura 4.22

Test de Wilcoxon :

Z: -2,97 (p < 0,003)

Al considerar la concentración de **triglicéridos en la vena umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 29 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 40,29; mediana = 45,97 y moda = 39,52

- de variación:

DE = 15,35; EEM = 2,85; P_{10} = 34,51 y P_{90} = 72,26

El valor mínimo de la muestra es de 25,81 y el máximo es 91,13, lo que arroja un rango de 65,32 mg/dl.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la concentración de **triglicéridos en la vena umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón se compone de un total de 30 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 39,91; mediana = 38,71 y moda = 27,42

- de variación:

DE = 13,90; EEM = 2,53; P_{10} = 26,21 y P_{90} = 56,45

El valor mínimo de la muestra es de 20,97 y el máximo es 91,94, lo que arroja un rango de 70,97 mg/dl.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es muy asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se ha podido demostrar **en la vena umbilical, una significativa mayor concentración de triglicéridos** en el grupo de ligadura precoz que en el tardío (Figura 4.23).

Estadísticos de triglicéridos en la vena umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	29	N válidos	30
Media	49,29	Media	39,91
Error típ. de la media	2,85	Error típ. de la media	2,53
Mediana	45,97	Mediana	38,71
Moda	39,52	Moda	27,42
Desv. típ.	15,35	Desv. típ.	13,90
Asimetría	1,19	Asimetría	1,87
Error típ. de asimetría	,43	Error típ. de asimetría	,42
Curtosis	1,33	Curtosis	5,70
Error típ. de curtosis	,84	Error típ. de curtosis	,83
Rango	65,32	Rango	70,97
Mínimo	25,81	Mínimo	20,97
Máximo	91,13	Máximo	91,94
Percentil 10	34,51	Percentil 10	26,21
Percentil 90	72,26	Percentil 90	56,45

Triglicéridos en vena umbilical y tipo de ligadura

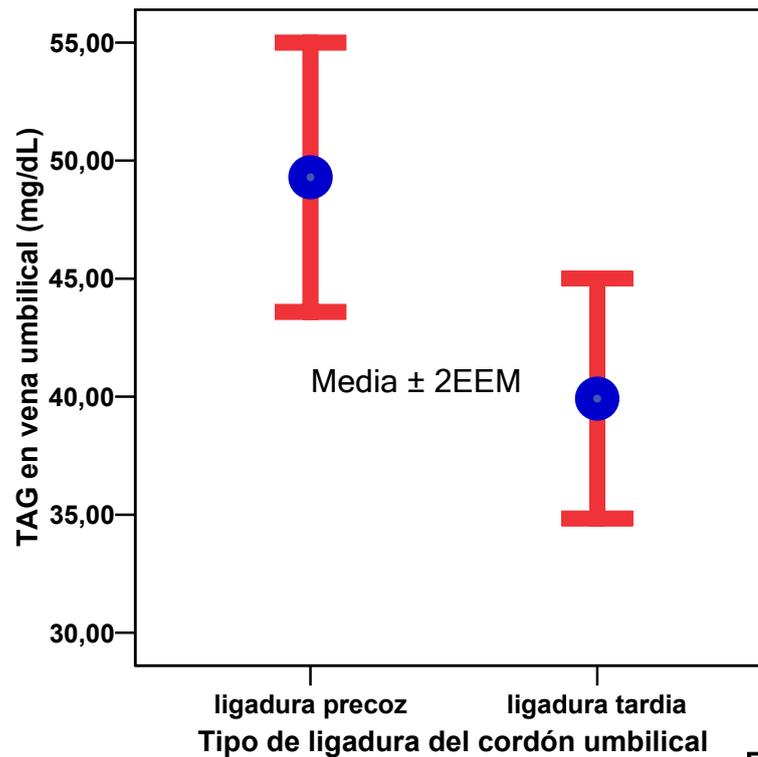


Figura 4.23

Test "U" de Mann y Whitney : 258,50

Z: -2,67 (p < 0,007)

Al considerar la concentración de **triglicéridos en la arteria umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 29 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 47,69; mediana = 48,39 y moda = 47,58

- de variación:

DE = 17,33; EEM = 3,21; $P_{10} = 26,77$ y $P_{90} = 72,25$

El valor mínimo de la muestra es de 19,35 y el máximo es 90,32 , lo que arroja un rango de 70,97 mg/dl.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como casi sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la concentración de **triglicéridos en la arteria umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón se compone de un total de 27 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 39,51; mediana = 37,10 y moda = 30,65

- de variación:

DE = 13,25; EEM = 2,55; $P_{10} = 27,74$ y $P_{90} = 48,22$

El valor mínimo de la muestra es de 20,97 y el máximo es 89,52, lo que arroja un rango de 68,55 mg/dl.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es muy asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se ha podido demostrar en la arteria umbilical, **una significativa mayor concentración de triglicéridos** en el grupo de ligadura precoz que en el tardío (Figura 4.24).

Estadísticos de triglicéridos en la arteria umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	29	N válidos	27
Media	47,69	Media	39,51
Error típ. de la media	3,21	Error típ. de la media	2,55
Mediana	48,39	Mediana	37,10
Moda	47,58	Moda	30,65
Desv. típ.	17,33	Desv. típ.	13,25
Asimetría	,51	Asimetría	2,20
Error típ. de asimetría	,43	Error típ. de asimetría	,44
Curtosis	-,04	Curtosis	7,32
Error típ. de curtosis	,84	Error típ. de curtosis	,87
Rango	70,97	Rango	68,55
Mínimo	19,35	Mínimo	20,97
Máximo	90,32	Máximo	89,52
Percentil 10	26,77	Percentil 10	27,74
Percentil 90	72,25	Percentil 90	48,22

Triglicéridos en Arteria Umbilical y tipo de ligadura

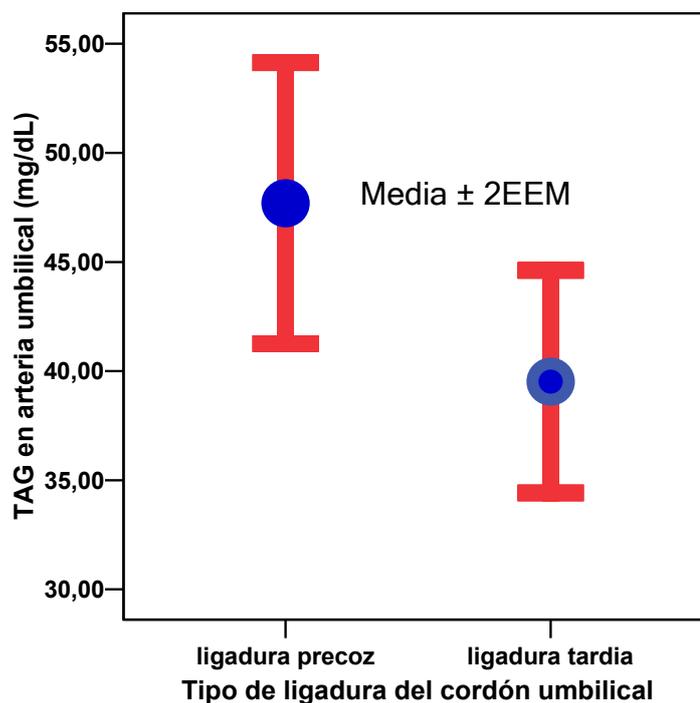


Figura 4.24

Test "U" de Mann y Whitney : 270,00

Z: -1,99 (p < 0,046)

Al considerar la concentración de **colesterol en la vena umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 28 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 68,39; mediana = 68,03 y moda = 65,69

- de variación:

DE = 11,13; EEM = 2,10; P_{10} = 53,02 y P_{90} = 84,18

El valor mínimo de la muestra es de 51,03 y el máximo es 87,39, lo que arroja un rango de 36,36 mg/dl.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como casi sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la concentración de colesterol en la vena umbilical la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 27 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 62,85; mediana = 62,76 y moda = 63,93

- de variación:

DE = 8,82; EEM = 1,64; P_{10} = 51,96 y P_{90} = 75,65

El valor mínimo de la muestra es de 51,03 y el máximo es 78,59, lo que arroja un rango de 68,55 mg/dl.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se ha podido demostrar en la vena umbilical, que se acerca a la significación estadística en el sentido de una mayor concentración de colesterol en el grupo de ligadura precoz que en el tardío (**Figura 4.25**).

Estadísticos de colesterol en la vena umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	28	N válidos	29
Media	68,39	Media	62,85
Error típ. de la media	2,10	Error típ. de la media	1,64
Mediana	68,03	Mediana	62,76
Moda	65,69	Moda	63,93
Desv. típ.	11,13	Desv. típ.	8,82
Asimetría	,007	Asimetría	,29
Error típ. de asimetría	,44	Error típ. de asimetría	,43
Curtosis	-1,08	Curtosis	-1,18
Error típ. de curtosis	,86	Error típ. de curtosis	,84
Rango	36,36	Rango	27,56
Mínimo	51,03	Mínimo	51,03
Máximo	87,39	Máximo	78,59
Percentil 10	53,02	Percentil 10	51,96
Percentil 90	84,18	Percentil 90	75,65

Colesterol en vena umbilical y tipo de ligadura

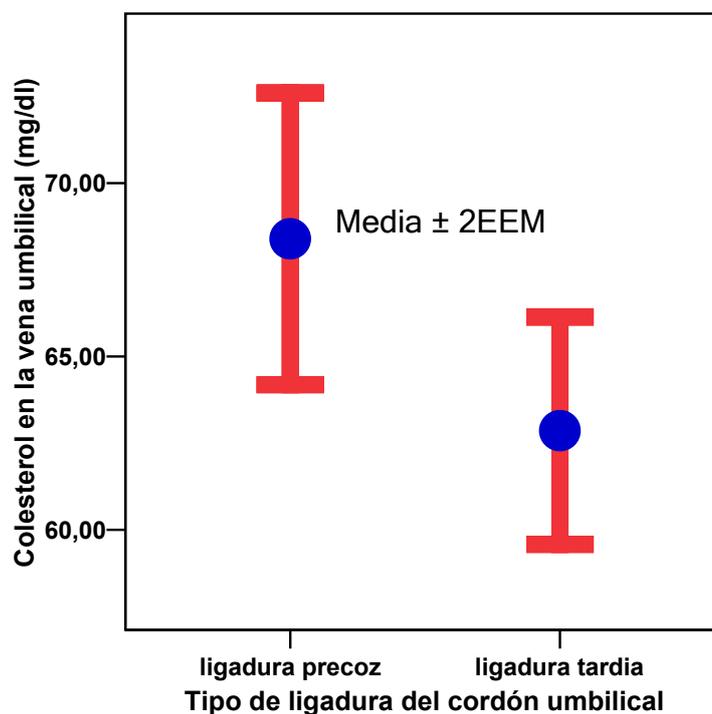


Figura 4.25

Test "U" de Mann y Whitney : 287,00

Z: -1,91 (p < 0,057)

Al considerar la concentración de **colesterol en la arteria umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 28 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 62,69; mediana = 59,23 y moda = 55,13

- de variación:

DE = 12,23; EEM = 2,31; P_{10} = 49,32 y P_{90} = 78,06

El valor mínimo de la muestra es de 39,30 y el máximo es 95,60, lo que arroja un rango de 56,30 mg/dl.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como casi sintótica y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la concentración de **colesterol en la arteria umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón se compone de un total de 26 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 58,44; mediana = 58,45 y moda = 61,58

- de variación:

De = 8,89; EEM = 1,74; P_{10} = 46,56 y P_{90} = 69,67

El valor mínimo de la muestra es de 44,57 y el máximo es 73,31; lo que arroja un rango de 28,74 mg/dl.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que esta es ligeramente asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar en la arteria umbilical, diferencias significativas entre la concentración de colesterol en el grupo de ligadura precoz y en el tardío (**Figura 4.26**).

Estadísticos de colesterol de la arteria umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	28	N válidos	26
Media	62,69	Media	58,44
Error típ. de la media	2,31	Error típ. de la media	1,74
Mediana	59,23	Mediana	58,45
Moda	55,13	Moda	61,58
Desv. típ.	12,23	Desv. típ.	8,92
Asimetría	,55	Asimetría	-,02
Error típ. de asimetría	,44	Error típ. de asimetría	,45
Curtosis	,62	Curtosis	-1,38
Error típ. de curtosis	,85	Error típ. de curtosis	,88
Rango	56,30	Rango	28,74
Mínimo	39,30	Mínimo	44,57
Máximo	95,60	Máximo	73,31
Percentil 10	49,32	Percentil 10	46,56
Percentil 90	78,06	Percentil 90	69,67

Colesterol en la arteria umbilical y tipo de ligadura

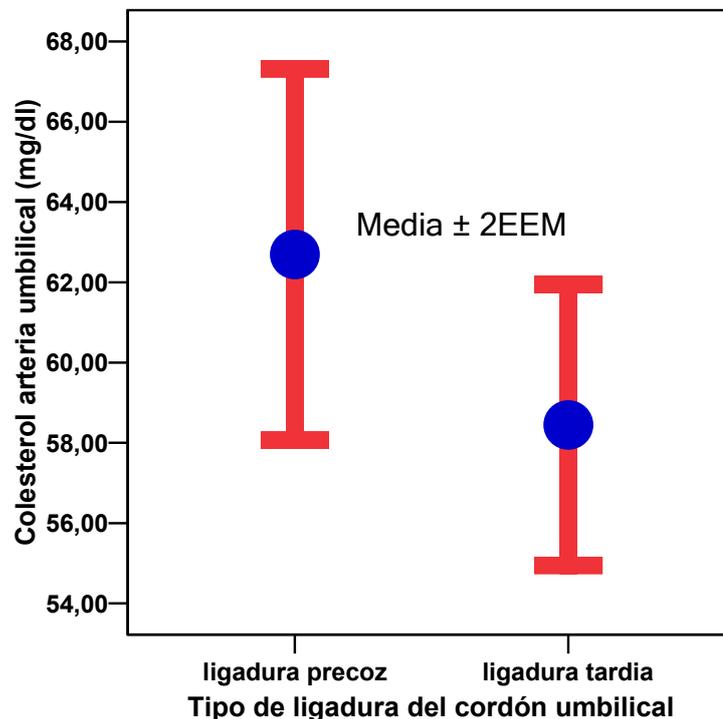


Figura 4.26

Test "U" de Mann y Whitney : 287,00

Z: -1,33 (p < 0,182)

Al considerar la concentración de **fosfolípidos en la vena umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 28 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 100,5; mediana = 97,83 y moda = 89,29

- de variación:

DE = 20,43; EEM = 3,86; P_{10} = 72,74 y P_{90} = 128,9

El valor mínimo de la muestra es de 52,38 y el máximo es 132,1; lo que arroja un rango de 79,76 g/dl.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de platicúrtica.

Al considerar la concentración de **fosfolípidos en la vena umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón se compone de un total de 29 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 94,59; mediana = 90,48 y moda = 79,76

- de variación:

DE = 24,68; EEM = 4,58; P_{10} = 64,29 y P_{90} = 141,7

El valor mínimo de la muestra es de 54,76 y el máximo es 157,1; lo que arroja un rango de 102,4 mg/dl.

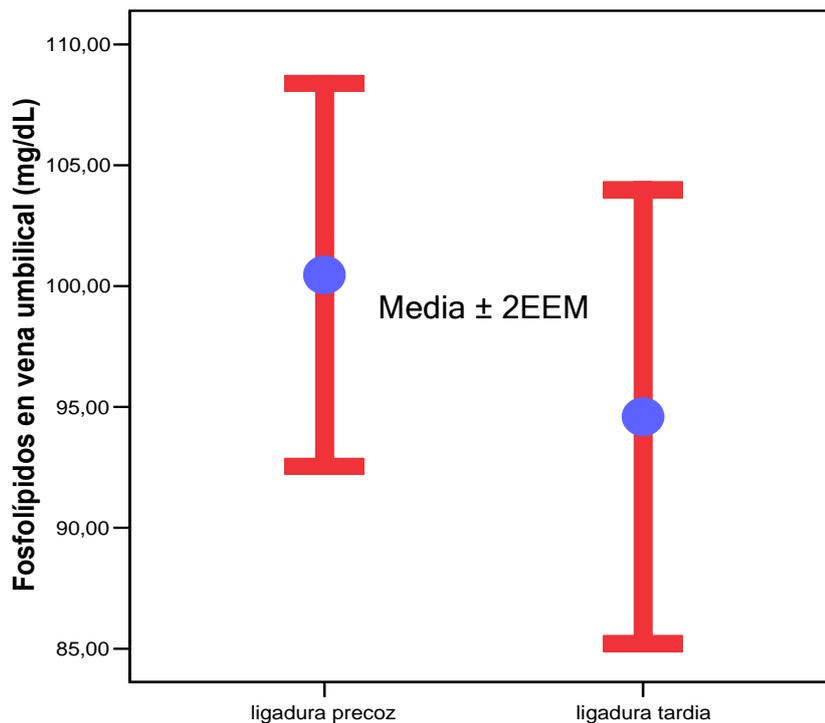
Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que es asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar en la arteria umbilical, diferencias significativas entre la concentración de fosfolípidos en el grupo de ligadura precoz y en el tardía (**Figura 4.27**).

Estadísticos de fosfolípidos en vena umbilical

	Ligadura precoz		Ligadura tardía
N válidos	28	N válidos	29
Media	100,5	Media	94,59
Error típ. de la media	3,86	Error típ. de la media	4,58
Mediana	97,83	Mediana	90,48
Moda	89,29	Moda	79,76
Desv. típ.	20,43	Desv. típ.	24,68
Asimetría	-,29	Asimetría	,94
Error típ. de asimetría	,44	Error típ. de asimetría	,43
Curtosis	-,16	Curtosis	,64
Error típ. de curtosis	,86	Error típ. de curtosis	,85
Rango	79,76	Rango	102,4
Mínimo	52,38	Mínimo	54,76
Máximo	132,1	Máximo	157,1
Percentil 10	72,74	Percentil 10	64,29
Percentil 90	128,9	Percentil 90	141,7

Fosfolípidos en vena umbilical y tipo de ligadura



Tipo de ligadura del cordón umbilical

Figura 4.27

Test "U" de Mann y Whitney : 311,00

Z: -1,52 (p < 0,129)

Al considerar la concentración de **fosfolípidos en la arteria umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 29 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 89,18; mediana = 80,95 y moda = 80,95

- de variación:

DE = 18,81; EEM = 3,49; P_{10} = 67,86 y P_{90} = 108,3

El valor mínimo de la muestra es de 59,52 y el máximo es 141,7; lo que arroja un rango de 82,15 g/dl.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede calificar de platicúrtica.

Al considerar la concentración de **fosfolípidos en la arteria umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón se compone de un total de 26 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central :

media = 89,43; mediana = 84,52 y moda = 67,86

- de variación :

DE = 22,9; EEM = 4,50; P_{10} = 66,67 y P_{90} = 115,5

El valor mínimo de la muestra es de 65,48 y el máximo es 165,8; lo que arroja un rango de 100,0 mg/dl.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que es asintótica a la derecha y, por el grado de “agudeza”, se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar en la arteria umbilical, diferencias significativas entre la concentración de fosfolípidos en el grupo de ligadura precoz y en el tardía (**Figura 4.28**).

Estadísticos de fosfolípidos de arteria umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	29	N válidos	26
Media	89,18	Media	89,43
Error típ. de la media	3,49	Error típ. de la media	4,50
Mediana	80,95	Mediana	84,52
Moda	80,95	Moda	67,86
Desv. típ.	18,81	Desv. típ.	22,91
Asimetría	1,06	Asimetría	1,53
Error típ. de asimetría	,43	Error típ. de asimetría	,46
Curtosis	1,55	Curtosis	3,42
Error típ. de curtosis	,85	Error típ. de curtosis	,89
Rango	82,15	Rango	100,0
Mínimo	59,52	Mínimo	65,48
Máximo	141,7	Máximo	165,8
Percentil 10	67,86	Percentil 10	66,67
Percentil 90	108,3	Percentil 90	115,5

Fosfolípidos en la arteria umbilical y tipo de ligadura

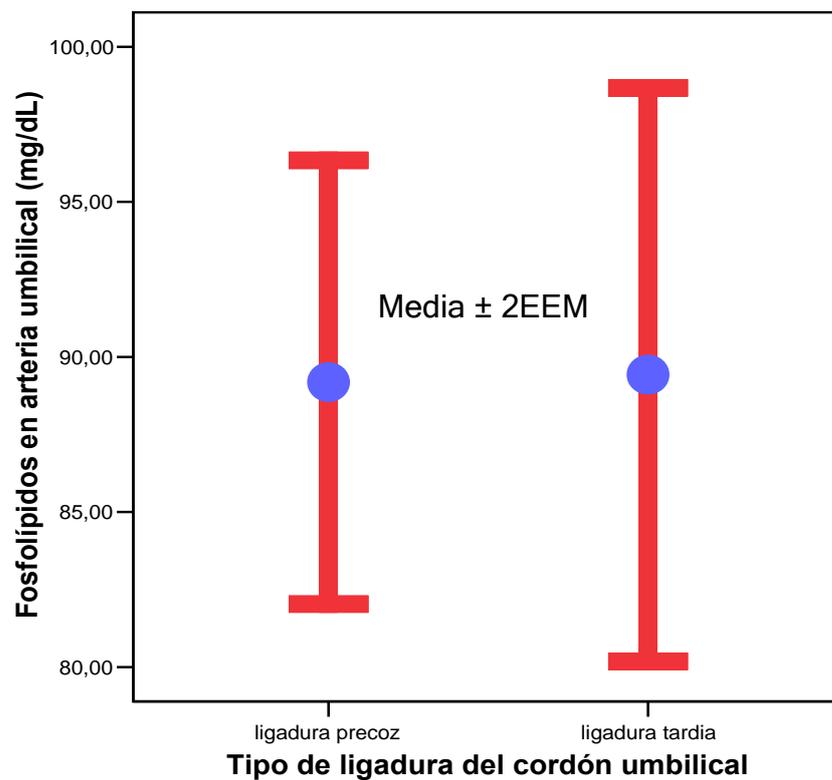


Figura 4.28

Test "U" de Mann y Whitney : 366,0

Z: -0,18 (p < 0,853)

Al considerar la concentración de **proteínas plasmáticas en la vena umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 29 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 5,6; mediana = 5,5 y moda = 4,6

- de variación:

DE = 0,82; EEM = 0,15; $P_{10} = 4,6$ y $P_{90} = 6,9$

El valor mínimo de la muestra es de 4,38 y el máximo es 7,37; lo que arroja un rango de 2,9 g/dl.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la concentración de **proteínas plasmáticas en la vena umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón se compone de un total de 36 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 5,4; mediana = 5,4 y moda = 5,1

- de variación:

DE = 0,82; EEM = 0,10; $P_{10} = 4,6$ y $P_{90} = 6,2$

El valor mínimo de la muestra es de 4,3 y el máximo es 6,84; lo que arroja un rango de 2,53 mg/dl.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que ella es muy ligeramente asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes "U" de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar en la vena umbilical, diferencias significativas entre la concentración de proteínas plasmáticas en el grupo de ligadura precoz y en el tardía (**Figura 4.29**).

Estadísticos de proteínas en vena umbilical

	Ligadura precoz		Ligadura tardía
N válidos	29	N válidos	36
Media	5,6	Media	5,46
Error típ. de la media	,15	Error típ. de la media	,10
Mediana	5,5	Mediana	5,4
Moda	4,6	Moda	5,1
Desv. típ.	,82	Desv. típ.	,6
Asimetría	,6	Asimetría	,09
Error típ. de asimetría	,434	Error típ. de asimetría	,4
Curtosis	-,18	Curtosis	-,3
Error típ. de curtosis	,84	Error típ. de curtosis	,7
Rango	2,9	Rango	2,53
Mínimo	4,38	Mínimo	4,31
Máximo	7,37	Máximo	6,84
Percentil 10	4,6	Percentil 10	4,6
Percentil 90	6,96	Percentil 90	6,2

Proteínas en la vena umbilical y tipo de ligadura

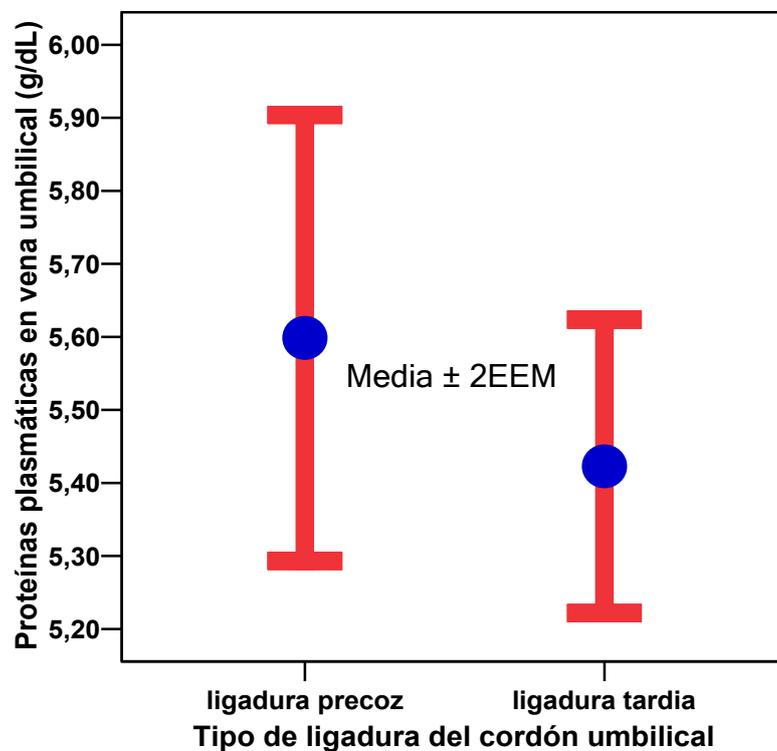


Figura 4.29

Test "U" de Mann y Whitney : 474,00

Z: -0,63 (p < 0,52)

Al considerar la concentración de **proteínas plasmáticas en la arteria umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura precoz** del cordón se compone de un total de 29 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 5,54; mediana = 5,5 y moda = 5,27

- de variación:

DE = 0,85; EEM = 0,15; $P_{10} = 4,48$ y $P_{90} = 6,31$

El valor mínimo de la muestra es de 4,22 y el máximo es 8,60; lo que arroja un rango de 4,38 g/dl.

Al ajustar los datos de la distribución de esta muestra a una curva normal puede definirse como asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede calificar de leptocúrtica.

Al considerar la concentración de **proteínas plasmáticas en la arteria umbilical** la muestra correspondiente a la **ligadura tardía** del cordón se compone de un total de 36 casos, los que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 5,32; mediana = 5,15 y moda = 4,22

- de variación:

DE = 0,88; EEM = 0,14; $P_{10} = 4,34$ y $P_{90} = 6,34$

El valor mínimo de la muestra es de 3,55 y el máximo es 8,39; lo que arroja un rango de 4,84 mg/dl.

Al ajustar los datos de esta muestra a una curva normal observamos que ella es asintótica a la derecha y, por el grado de "agudeza", se puede conceptuar de leptocúrtica.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes "U" de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar en la arteria umbilical, diferencias significativas entre la concentración de proteínas plasmáticas en el grupo de ligadura precoz y en el tardía (**Figura 4.30**).

Estadísticos de proteínas en arteria umbilical

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	29	N válidos	36
Media	5,54	Media	5,32
Error típ. de la media	,15	Error típ. de la media	,14
Mediana	5,50	Mediana	5,15
Moda	5,27	Moda	4,22
Desv. típ.	,85	Desv. típ.	,88
Asimetría	1,43	Asimetría	1,07
Error típ. de asimetría	,43	Error típ. de asimetría	,39
Curtosis	4,70	Curtosis	3,14
Error típ. de curtosis	,84	Error típ. de curtosis	,76
Rango	4,38	Rango	4,84
Mínimo	4,22	Mínimo	3,55
Máximo	8,60	Máximo	8,39
Percentil 10	4,48	Percentil 10	4,34
Percentil 90	6,31	Percentil 90	6,34

Proteínas en la arteria umbilical y tipo de ligadura

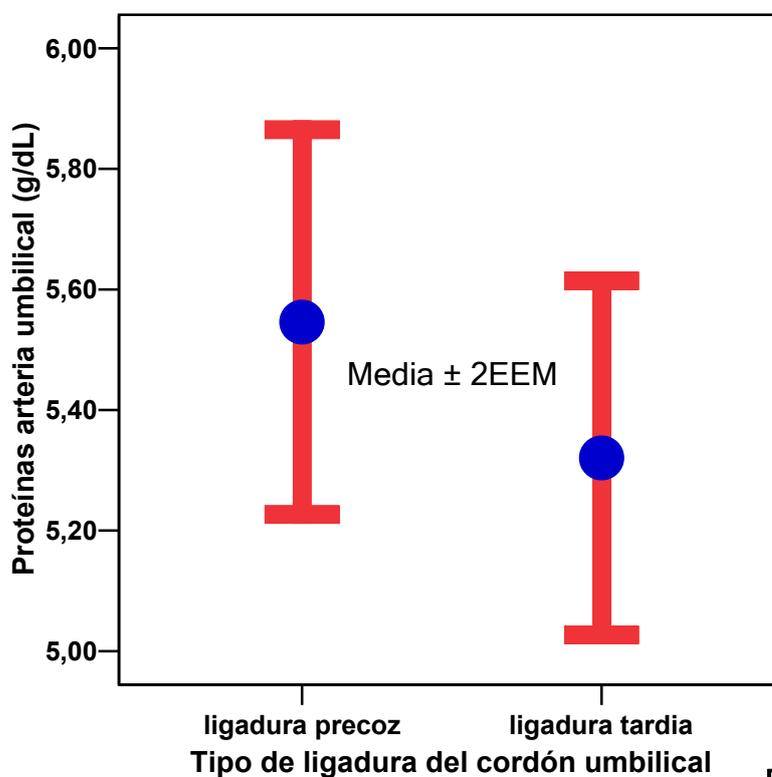


Figura 4.30

Test "U" de Mann y Whitney : 426,5

Z: -1,26 (p < 0,207)

CAPÍTULO V
- DISCUSIÓN

En nuestro estudio, consideramos **ligadura precoz (LP)** a la realizada **antes de los 20 segundos** y **ligadura tardía (LT)** a aquella realizada a los **2 minutos** tras el nacimiento. Hubiéramos preferido alargar este tiempo más aún -hasta el cese del latido de los vasos umbilicales- pero, durante el periodo “piloto” de puesta en marcha de este proyecto de investigación, observamos que en un número importante de casos, las arterias umbilicales se quedaban exánquies a partir de los 2:15 minutos. No obstante, Cruz³¹ señala que la mitad de la sangre placentaria pasa al feto en un tiempo de 1-1.5 minutos y eleva su volumen hemático en un 25%. Usher⁴³ refiere que el 50% de la transfusión placentaria pasa al neonato en el primer minuto. Por lo tanto, consideramos suficiente el tiempo de 2 minutos para obtener los efectos deseados de la LT.

Como hemos descrito en el apartado de material y métodos, antes de realizar la ligadura tardía colocábamos al neonato 20 cm por debajo del introito vaginal. En 1953 Duckman⁴⁹ comprobó que el neonato recibe mayor cantidad de sangre cuando es mantenido por debajo del nivel materno que por encima de este nivel. Hohman⁴⁵ asegura que es imprescindible una diferencia significativa de la presión hidrostática existente entre la placenta y el feto para que se produzca la transfusión placentaria. Kuncel⁵¹ comprueba una disminución de la transfusión placentaria si la ligadura del cordón se produce en un tiempo inferior a los 180 segundos del nacimiento y si el neonato es colocado 20 cm o más sobre la inserción placentaria. También se ha investigado la relación de la transfusión placentaria con el recién nacido sobre el abdomen materno antes del pinzamiento (método Leboyer); se observó que estos recién nacidos tenían un volumen sanguíneo 32% más alto que aquellos otros a los cuales se les pinzó el cordón de forma inmediata tras el nacimiento, sin que ello supusiera un perjuicio para el neonato ni un detrimento en los cambios hemodinámicas.^{5,9-10,44}

Los **parámetros hematológicos** (hematíes, hemoglobina, hematocrito) se analizaron en 53 muestras de ligadura precoz y 39 de ligadura tardía, **sin observarse diferencias estadísticamente significativas** mediante el test “U” de Mann Whitney entre cada uno de los parámetros de las dos muestras (**Figura 4.1**).

La literatura médica contiene muchas referencias sin evidencia científica, sobre los posibles efectos perjudiciales del pinzamiento tardío del cordón umbilical. Actualmente, está tan extendida la creencia de que este tipo de ligadura causa policitemia, hiperviscosidad, hiperbilirrubinemia y taquidnea del recién nacido, que se acepta sin claras referencias bibliográficas.^{98,99,100,101} En 1977 Sargal y Usher⁹² relacionaron el tipo de ligadura del cordón umbilical con una policitemia sintomática, pero dichos resultados no han sido replicados.

Por problemas éticos derivados de la obtención de muestras sanguíneas de los neonatos, no ha sido posible conocer los parámetros hematológicos o bioquímicos (tal es el caso de la bilirrubina) del recién nacido tras el parto. Para conocer dichos parámetros, solamente hemos obtenido sangre de cordón umbilical de recién nacidos a término tras un parto eutócico, de aquellas muestras aleatorizadas para la ligadura precoz o para la ligadura tardía, tras el previo consentimiento materno. Sin embargo y bajo un punto de vista metodológico, existe una **buena correlación entre los valores de cordón umbilical y sangre periférica a las dos horas de vida**, según un estudio de Shohat publicado en 1984¹⁴⁵ y de Ramamurthy³⁷² en 1987. Esto sugiere que el uso del hematocrito del cordón umbilical podría utilizarse como screening neonatal de policitemia.

Así pues, basándonos en estos dos estudios, podemos afirmar tras conocer los resultados de nuestras muestras-ningún valor de hematocrito es superior al 65%- que, aquellos niños a los que se les realizó la ligadura tardía no tuvieron una policitemia (hematocrito venoso mayor o igual de 65%), a pesar de la transfusión placentario-fetal que se produjo durante 2 minutos. Ninguno de ellos precisó hospitalización en el Servicio de Pediatría y todos se fueron de alta con sus madres a las 48 horas del parto. Aunque se dice que esta transfusión placentaria le aporta al feto un 30% adicional de volumen sanguíneo y hasta un 60% más de eritrocitos,⁵⁷ los cuales al destruirse por la hemólisis suplen alrededor de 50 mg de hierro a las reservas del neonato, que tan importantes le son,⁵⁸ en nuestro caso no tuvimos elevación significativa del hematocrito, ni repercusiones clínicas de dicha transfusión.

Es imprescindible hablar de la **viscosidad** puesto que usualmente, aunque no siempre, el aumento de la viscosidad sanguínea acompaña a la policitemia, asociándose con un pobre resultado neurológico. Tanto las transfusiones sanguíneas como la transfusión fisiológica de la placenta, incrementan la viscosidad sanguínea de los recién nacidos. Uno de los aspectos más estudiados de la Hemorreología es la relación y repercusiones del hematocrito sobre el síndrome de hiperviscosidad neonatal.^{132,133,134}

Existe una relación lineal entre la viscosidad y el hematocrito venoso cuando éste es inferior al 42%. A partir de este valor la relación se hace exponencial; cuando el hematocrito es superior al 65%, se aprecia un incremento ostensiblemente mayor por cada unidad del aumento del hematocrito. Sin embargo, dentro del capilar del neonato las cosas no son exactamente iguales, pues se ha demostrado que la viscosidad disminuye en los capilares de menos de 0.3 mm por efecto de la disposición de las partículas dentro del flujo.

Además, sabemos que el eritrocito del neonato tiene diferencias importantes desde el punto de vista morfológico y físico respecto del adulto; la membrana celular es más rígida, la célula tiene una forma más globulosa y es de mayor tamaño. Sin embargo tiene la propiedad de no apilarse en columnas y, por lo tanto, tiende menos a la agregación cuando los flujos son extremadamente lentos.

Hemos analizado la viscosidad de la **vena umbilical (Figura 4.2)** y de la **arteria umbilical (Figura 4.3)** en ambos grupos y no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas.

Una vez demostrado que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la viscosidad de la vena o de la arteria en ambos grupos de LP o de LT, hemos agrupado todos los casos de vena y de arteria para compararlos. **No hemos hallado diferencias estadísticamente significativas** entre la **vena** y la **arteria**, aunque en la **figura 4.4** vemos claramente que la viscosidad es más alta en la arteria umbilical que en la vena. Esto se debe fundamentalmente a dos motivos:

1. El hematocrito fetal es más alto.
2. Los eritrocitos fetales menos deformables.

Sin embargo, cuando las viscosidades maternas y fetales se miden a valores de hematocrito corregidos de un 45%, observamos una viscosidad

sanguínea fetal significativamente más baja que la materna,¹³⁷ circunstancia explicable por la menor viscosidad plasmática fetal.

Así, la hiperviscosidad puede venir dada por el incremento de alguno de los factores que sabemos intervienen en la viscosidad, tal es el caso del hematocrito (ya comentado), la **agregación eritrocitaria**, la **rigidez eritrocitaria**, la **concentración de leucocitos, plaquetas** y la **concentración de proteínas**, tal es el caso del **fibrinógeno**, con un peso molecular muy alto de 340.000 daltons y una gran facilidad para formar multímeros y a su interacción con las membranas eritrocitarias, determinando su agregación y, por lo tanto, un incremento en la viscosidad sanguínea.

En nuestro caso, **no hubo diferencias estadísticamente significativas** en la concentración de **leucocitos, plaquetas** o en la concentración de **fibrinógeno** (**Figura 4.5**) en la vena umbilical de ambos grupos, lo cual también podría explicar el porqué no existen diferencias significativas en la viscosidad de la vena de ambos grupos. No ha sido posible analizar estos parámetros en la arteria umbilical debido a la escasa cantidad de sangre que podíamos obtener de ellas.

La **ley de Poiseulle** nos dice que el flujo (**Q**) es directamente proporcional al radio (**r**) y a la diferencia de presión (**P₁-P₂**) entre dos puntos, mientras que es inversamente proporcional a la viscosidad (**η**) y a la distancia entre dos puntos (**L**):

$$Q = \frac{r^4 (P_1 - P_2)}{8 L \eta}$$

$$Q = \frac{\Delta P}{R}$$

Es decir, a mayor resistencia (**R**) (viscosidad, diámetro del vaso, distancia entre dos puntos), menor flujo sanguíneo y a mayor presión, mayor flujo.

$$R = \frac{8L\eta}{P_1 - P_2 r^4}$$

Si el radio se reduce a la mitad, necesitamos 16 veces más presión para mantener el mismo flujo.

De esta fórmula podemos deducir que, a pesar de existir un aumento de la viscosidad plasmática en las muestras de la ligadura tardía (no estadísticamente significativa en comparación con las de la ligadura precoz), no existe mayor resistencia y por lo tanto menor flujo sanguíneo, puesto que también se produce un aumento de la presión arterial por ese aumento de la transfusión sanguínea que tiene lugar cuando se realiza la ligadura tardía.⁷¹⁻⁷³

Por ello, ese incremento de la viscosidad, se acompaña de una disminución significativa de la resistencia vascular, que produce mayor vasodilatación pulmonar y sistémica, componentes esenciales de la adaptación neonatal a la vida extrauterina.⁵

Los cambios respiratorios y hemodinámicos que ocurren durante la transición de la vida intrauterina a la extrauterina, se explican inicialmente por una adecuada expansión pulmonar y el incremento subsiguiente del pH y la pO₂. Se produce una vasodilatación de la arteria pulmonar, disminución de la resistencia vascular y aumento del flujo sanguíneo a este órgano. En consecuencia, para que exista una adecuada perfusión pulmonar deben insuflarse primero los alvéolos.^{59,60,61,62} En la vida intrauterina los pulmones reciben únicamente el 8% del gasto cardiaco, mientras que la placenta el 40%. Durante la última fase del trabajo de parto, las contracciones uterinas crean presiones mayores de 80 mmHg, lo que permite el paso adicional de sangre de la placenta al feto inmediatamente antes o durante el nacimiento, con una mejoría de la perfusión pulmonar y de otros órganos. De esta manera se induce la erección de los capilares pulmonares, incrementando el gasto cardiaco que va a los pulmones y facilitando la remoción del líquido pulmonar fetal y la entrada de aire en los alvéolos.^{5,59}

Así pues, si se realiza la ligadura precoz del cordón umbilical, el volumen de sangre existente en la placenta no pasa al recién nacido, por lo que el flujo sanguíneo necesario para la perfusión pulmonar es “extraído” de otros órganos, causando una potencial hipoperfusión de éstos.⁵

En cuatro estudios, se comprobó que los neonatos sometidos a la LT tuvieron, en las primeras horas de vida, valores de **presión arterial sistólica** significativamente mayores que los del grupo de LP,^{58,71,72,73} aunque para Nelle⁷⁴ la presión arterial fue similar en ambos grupos. También la volemia es significativamente mayor en los neonatos de la LT; esta diferencia verificada ya desde los primeros minutos de vida, también ha sido encontrada al quinto día de vida.^{5,22,23,48,79,57,105,106}

En dos estudios, se observó que la **frecuencia respiratoria** es significativamente más elevada en los recién nacidos con ligadura tardía.^{73,78}

En otros cuatro estudios se comprobó que durante las 12 primeras horas de vida, el **volumen urinario**, el aclaramiento de inulina y de para-amino-pirúvico, así como el flujo sanguíneo renal, eran significativamente mayores en los recién nacidos de la LT. Es posible que la función renal se efectúe en mejores condiciones en los neonatos con este tipo de ligadura.^{51,57,79} Sin embargo, Cort y Prybylba³⁷ no encontraron diferencias significativas comparando el volumen urinario del primer día en los neonatos de ambos grupos.

La **hiperbilirrubinemia** es otra situación patológica relacionada con la LT. En 1972, Sargal observó en un grupo de recién nacidos pretérmino a los que se les había hecho la LT niveles mayores de bilirrubina.¹⁴⁸

En una revisión sistemática, Mercer y cols.⁵ incluyeron cuatro estudios clínicos aleatorizados con 409 recién nacidos a término y siete con 247 pretérmino. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de bilirrubina en los niños con pinzamiento tardío, comparados con aquellos con pinzamiento precoz.

En nuestro estudio **no** encontramos **diferencias estadísticamente significativas** entre ambos grupos para la bilirrubina en la vena umbilical mediante el test “U” de Mann Whitney (**Figura 4.5**). Fue imposible el análisis de la bilirrubina en la arteria umbilical por tener una muestra escasa de sangre en el grupo de la

ligadura tardía, al igual que también fue imposible el análisis de la bilirrubina en el neonato durante la primeras 48 horas de vida por problemas del consentimiento de los padres (excepto en aquellos casos en los que el recién nacido presentó ictericia) (se comentará más adelante).

La mayoría de los neonatos desarrollan niveles de bilirrubina sérica no conjugada superiores a 2 mg/dL durante la primera semana de vida. Este valor crece normalmente en los recién nacidos a término hasta un promedio de 6-8 mg/dL a los tres días de vida y disminuye a menos de 1.5 mg/dL al décimo día en recién nacidos normales. Un aumento de hasta 12 mg/dL se considera dentro de los límites fisiológicos (**ictericia fisiológica del recién nacido**).¹⁶²

También se ha podido demostrar que los neonatos a término y sanos que son alimentados con leche materna, tienen entre 3 y 4 veces más posibilidad de desarrollar ictericia moderada y severa que los que son alimentados con biberón.¹⁶³ Sin embargo, a nadie se le ha ocurrido decir que el biberón es mucho mejor que la lactancia materna; **¿por qué sí con la ligadura tardía?**

Otra de las afecciones del recién nacido relacionadas con la ligadura tardía es la **taquipnea transitoria del recién nacido**.

Por el contrario, los estudios clínicos controlados realizados en las últimas décadas, no evidencian una mayor incidencia en los niños a los que se les realizó la LT, aunque sí una mayor frecuencia respiratoria durante las primeras tres horas de vida que no requiere ningún tipo de tratamiento.⁵ Moss³⁹ observó menor incidencia del Síndrome de distrés respiratorio (SDRI) y letalidad en los recién nacidos a los que se les practicó la LT en relación con la LP; Bound¹⁶⁷ corroboró este hallazgo. Por el contrario, Yao²⁵ encontró una menor letalidad para SDRI en los recién nacidos con LP. En otros dos estudios no se encontraron diferencias.^{34,38}

Otro de los motivos por los cuales comenzó a realizarse la ligadura precoz fue para realizar un **manejo activo del alumbramiento**, con oxitocina o metilergometrina, y disminuir la **hemorragia postparto**. Sin embargo, aunque se ha visto que se reduce el sangrado materno, no necesariamente va acompañado de una reducción de la mortalidad materna ni tampoco conocemos los efectos a largo plazo sobre la madre.³⁷⁴

Rogers³⁷³ realizó en 1998 un estudio en el que se comprobó que el manejo activo del alumbramiento se asociaba con un 6.8% de hemorragia postparto (sangrado mayor de 500 ml), comparado con un 16.5% en aquellos casos en los que se había realizado un manejo expectante del alumbramiento, donde se encontró un 16.5% de hemorragia postparto. Sin embargo, el porcentaje de hemorragia postparto severa (pérdida de más de 1000 ml) fue muy bajo en ambos grupos: 1.7% en el manejo activo y un 2.6% en el expectante.

En 1968, Botha⁹⁷ atendió más de 26.000 partos vaginales durante más de 10 años, realizándose un manejo expectante del alumbramiento. En ningún caso fue necesario una transfusión sanguínea postparto.

En ese mismo año, Walsh afirmaba que la ligadura del cordón umbilical, que no se practica en las culturas indígenas, contribuye a la hemorragia postparto y a la retención placentaria, "atrapando" alrededor de 100 ml dentro de la

placenta, lo cual incrementa el volumen placentario de manera que el útero no se puede contraer bien, siendo más difícil de expulsar.

En 1987 Gilbert³⁷⁶ publicó que la tasa de hemorragia postparto en su hospital se había duplicado del 5% en 1969-70 al 11% en 1983-5 y concluye: *“los cambios en la práctica del trabajo de parto en los últimos 20 años han inducido que la hemorragia postparto sea un problema muy importante. En particular, relaciona el riesgo de sangrado con la inducción del parto con oxitocina, la utilización del fórceps, trabajo largo de parto y el uso de la epidural, que a su vez incrementa el uso del fórceps y la prolongación del trabajo de parto”*.

El pinzamiento del cordón de forma precoz, podría incluso producir un atrapamiento extra de sangre en la placenta, que podría pasar a la circulación materna por las contracciones del tercer estadio del parto. Esta transfusión feto-materna incrementaría las posibilidades de una posible y futura incompatibilidad Rh.^{377,378}

En nuestro estudio, mediante el test de Fisher **no** encontramos **diferencias estadísticamente significativas** en el **tipo de alumbramiento** (espontáneo o manual) en los dos grupos de ligadura del cordón umbilical (**Figura 4.6**).

En cuanto a la **duración del alumbramiento**, mediante el test “U” de Mann Whitney, tampoco pudimos demostrar que hubiese diferencias estadísticamente significativas. En el grupo de la LP, la media fue **10,71 minutos**, mientras que en el de la LT, la media fue **10,34 minutos** (**Figura 4.7**).

La Sociedad de Obstetras y Ginecólogos de Canadá recomienda el pinzamiento inmediato del cordón umbilical para la obtención rutinaria de sangre del mismo, para el **análisis de gases sanguíneos**.³ Esta recomendación también es dada por el Colegio Real de Obstetras y Ginecólogos del Reino Unido.⁴

En 1982, Kunzel³⁸⁰ comparó los gases del cordón umbilical de 20 neonatos; a 10 se les practicó la LP y a otros 10 la LT. En ambos grupos se analizó el **pH, pCO₂ y la pO₂**, **sin observarse diferencias significativas** entre ambos grupos. Tras el análisis de estos datos, se llegó a la conclusión de que el inicio de la ventilación en el neonato, no afecta a los gases sanguíneos del cordón umbilical cuando se practica la LT.

Nosotros **no** hemos encontrado **diferencias estadísticamente significativas** en los **gases de cordón**, ni en la vena ni en la arteria umbilical (**Figuras 4.8, 9, 10, 12, 13, 14, 15**) excepto en la **pO₂ de la arteria umbilical**, en el sentido de ser más alta en las muestras de ligadura tardía (**Figura 4.11**). Este aumento de la pO₂ puede provenir de que el neonato comienza a respirar antes del pinzamiento del cordón umbilical y, por lo tanto, el inicio de la ventilación en el recién nacido sí afecta a la pO₂ en la arteria cuando se practica la LT.

La cantidad de sangre que el neonato recibe de la placenta dependerá de factores como la contractilidad uterina espontánea,^{52,53} la oxitocina⁴⁷ o la influencia ejercida por la instalación de la primera respiración.⁵⁴ En esto último, Yao⁴⁷ no encontró ninguna influencia directa de la instalación de la respiración sobre el volumen de la transfusión placentaria. Nosotros hemos encontrado, en la **reanimación del recién nacido**, que **existen diferencias estadísticamente significativas** entre el tipo de ligadura del cordón umbilical y el tipo de reanimación

del neonato, en el sentido de asociarse **más la reanimación neonatal con oxígeno en los casos de ligadura precoz** del cordón umbilical (Figura 4. 16), lo cual concuerda con los resultados de la pO_2 . Ahora bien, parece que el aumento de la pO_2 no es solo consecuencia del tiempo, es decir a los neonatos con LP también les subirá de la misma manera después de la ligadura y como consecuencia de la instauración de la respiración extrauterina, ya que hemos señalado la mayor demanda de oxígeno de estos. Por tanto podemos colegir que además del efecto temporal hay un efecto beneficioso en la gasometría del recién nacido. Así pues, nuestros hallazgos pueden justificar la menor tasa de problemas respiratorios neonatales en la LT señalada por Moss³⁹ y Bound.¹⁶⁷

La LT se ha relacionado con la taquipnea del recién nacido²⁷, sin embargo nuestros resultados gasométricos no avalan dicha relación dado que no hay diferencias en la pCO_2 .

Budin⁵⁵ estimó un aumento de **peso** de cien gramos en los tres primeros minutos de vida y lo atribuyó a la transfusión placentaria. Por otro lado, Pinotti⁴¹ encontró una diferencia significativa entre los pesos del neonato antes y después de la transfusión. Fonseca⁵³ y Gunther⁴⁰ registraron electrónicamente el aumento ponderal que ocurre a medida que se efectúa el pasaje de sangre hacia el neonato.

En nuestro estudio, comparamos el peso del recién nacido a los 10 minutos del nacimiento, **sin** encontrar **diferencias estadísticamente significativas** entre las dos muestras mediante el test "U" de Mann Whitney (Figura 4.17).

En cuanto a la existencia o no de **patología en el recién nacido** a las 48 horas de vida, **no** hemos podido demostrar **diferencias estadísticamente significativas** mediante el test de chi cuadrado (Figura 4.18). Sin embargo, podemos decir que el tamaño de nuestra muestra es pequeño para demostrar diferencias en la patología neonatal en la que intervienen otras variables. Razonablemente, el número de patología del recién nacido es baja en ambos grupos de estudio, por lo que sería necesario que el número de casos fuese mucho más grande para poder demostrar la existencia de una asociación estadísticamente significativa.

Como podemos observar en la **figura 4.18**, en el grupo de la ligadura precoz encontramos un 7,6% de patología en las primeras 48 horas de vida, mientras que en el grupo de la ligadura tardía, esta cifra desciende a casi la mitad (4,2%), lo que se acerca a la significación estadística, en el sentido de asociarse más patología del recién nacido a la ligadura precoz. Ninguno de estos niños precisó ningún tipo de tratamiento ni la hospitalización en el Servicio de Pediatría.

Decidimos incluir en este estudio el análisis de la concentración de la **melatonina** (aMT) en el cordón umbilical, tanto en el grupo de la ligadura precoz como en el de la ligadura tardía. El motivo de hacerlo se debe a que además de ser responsable del ritmo circadiano, esta hormona es uno de los antioxidantes más potentes y más estudiados, con muchas publicaciones al respecto, tanto en animales como en el ser humano. El beneficio clínico potencial de esta hormona como antioxidante es notable, sugiriendo que podría usarse en el tratamiento de muchas enfermedades como el cáncer, la hipertensión, enfermedades pulmonares, incluso en algunas enfermedades degenerativas como es el caso de la enfermedad de Alzheimer.²⁷⁵

Hay pocos estudios en la literatura científica sobre los cambios de la melatonina en la mujer embarazada o durante el parto, al igual que en el feto, cordón umbilical o recién nacido.

Se ha descrito un aumento de aMT durante el embarazo.³¹¹ Otros autores encuentran alteraciones del ritmo circadiano, con los niveles mínimos de aMT en mujeres gestantes entre las 14.00 y las 20.00 horas (23-30 pg/mL) y los valores máximos entre las 02.00 y las 08.00 horas (67-91 pg/mL); a diferencia de otras edades, los niveles entre las 08.00 y las 14.00 horas son equivalentes a los nocturnos (64-86 pg/mL).³¹²

Se ha demostrado que durante el parto ocurren cambios significativos en la concentración de aMT en la circulación materna y fetal. Según Mitchell y cols.³¹⁴ la concentración de aMT en el líquido amniótico es mayor durante el parto a término de inicio espontáneo (262 pg/mL) que en el caso del parto inducido (190 pg/mL).

Nosotros no hemos analizado la concentración de melatonina en el líquido amniótico. Por el contrario, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en la concentración de melatonina en la madre, vena o arteria, entre el grupo de pacientes inducidas o las que comenzaron el parto de forma espontánea.

Diversos autores han señalado la presencia del ritmo circadiano en la concentración plasmática de aMT, tanto en ovejas embarazadas como en sus fetos en el último trimestre de la gestación.^{320,321} El ritmo en el feto es menos intenso y está retrasado de 0.5 a 1.5 horas respecto al de la madre.³²⁰ Dado que es capaz de atravesar la placenta, la melatonina presente en la circulación fetal puede ser de origen materno o derivar tanto de la madre como del feto.³²¹

Mientras que Evans y cols.³¹⁷ encuentran un ritmo circadiano de aMT en sangre de cordón, Vicente y cols.³¹⁸ afirman que, aunque se detectan cantidades significativas de aMT en sangre de cordón, no se aprecia un ritmo circadiano.

Rodríguez³¹⁹ ha encontrado una variación rítmica circadiana de la concentración de melatonina tanto en la arteria como en la vena umbilical, con valores superiores en la segunda. Además, encuentra niveles más elevados en el caso de sufrimiento fetal agudo, lo que está en consonancia con la pretendida actividad antiestrés de la melatonina.

No hemos podido analizar si existe un ritmo circadiano o no de la melatonina en las muestras maternas o del cordón umbilical, debido a la existencia de un sesgo importante por la hora del parto, pues las muestras fueron recogidas en partos que se iniciaron al entrar de guardia, a partir de las 10 de la mañana, y que transcurrían durante el día, para que otra persona ajena al equipo de guardia pudiera llevar a cabo las tomas y preparar la muestra para su estudio en el laboratorio.

En 1979, Mitchell y cols.³¹⁵ observaron que las concentraciones en el cordón umbilical fueron significativamente mayores que en el plasma materno durante el parto. Por otra parte, los niveles fueron significativamente superiores en la vena que en la arteria umbilical durante el parto vaginal, ocurriendo lo contrario durante la cesárea (niveles superiores en la arteria). Este cambio se

debió a la disminución de los niveles arteriales durante el parto vaginal, mientras que los venosos se mantuvieron estables.

En 1989, se realizó en España un estudio por Vicente y cols.³³¹ para determinar si la melatonina circulaba en el cordón umbilical de recién nacidos sanos y si la concentración de esta hormona seguía un ritmo circadiano al nacimiento. Se demostró que la aMT estaba presente en niveles altos, que podrían ser, al menos en parte, de origen materno. Estos resultados también sugerían la ausencia de ritmo circadiano de la melatonina en recién nacidos humanos, que podrían reflejar la inmadurez de los componentes relacionados con la síntesis de la aMT.

En 1992 Muñoz-Hoyos y cols.³³² estudiaron 112 neonatos divididos en tres grupos: recién nacidos a término, pretérmino y neonatos con distrés respiratorio. Se midió el nivel en la arteria y vena umbilical en el momento del nacimiento, sin que hubiese prácticamente diferencias en la concentración de esta hormona, observándose un ritmo diurno en todos los grupos. Por el contrario, el nivel nocturno de melatonina fue más elevado en el grupo de los niños con distrés respiratorio, en comparación con los otros dos grupos. Estos resultados sugieren, en primer lugar, que en los neonatos existe un ritmo en la secreción de melatonina, aunque no se pudo determinar si este ritmo era de la madre o del feto. En segundo lugar, los neonatos con distrés respiratorio presentaban un aumento en la producción nocturna de melatonina, en comparación con los recién nacidos a término y los pretérmino sin distrés.

En 1993, este mismo autor y colaboradores realizaron otro estudio en 119 neonatos normales y a término para determinar si el ritmo circadiano de la melatonina descrito en sangre del cordón umbilical, era debido a la actividad en la glándula pineal del feto. Los resultados sugirieron que la glándula pineal del feto secreta melatonina, pero no de una manera rítmica, lo cual indica que el ritmo circadiano de esta hormona descrito previamente en sangre de cordón umbilical, era reflejo del ritmo de la madre.

Por el contrario, nosotros hemos observado que no existen diferencias estadísticamente significativas en la concentración de **melatonina** en la **vena** (Figura 4.19) o en la **arteria umbilical** (Figura 4.20) entre la LP o la LT. Sin embargo, si comparamos la **concentración de melatonina de la vena con la arteria umbilical**, **sí existen diferencias estadísticamente significativas** en el sentido de más concentración en la arteria (Figura 4.21). Esto nos sugiere que el feto, además de recibir melatonina de la madre a través de la vena umbilical, puesto que atraviesa la barrera placentaria,³²¹ también la produce ante situaciones de estrés como puede ser el parto. Es decir, las altas concentraciones relativas de aMT en el cordón umbilical junto con el cambio en las diferencias arterio-venosas con el tipo de parto, sugieren que la pineal es activa en el feto y es capaz de responder durante el parto.

También hemos analizado la concentración en suero materno cuando la parturiente pasaba a la sala de dilatación iniciando la fase activa y cuando estaba en expulsivo (Figura 4.22). Existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de melatonina al inicio y al final del parto, lo cual indica que la parturiente utiliza dicha hormona en el trabajo de parto y tal vez que la suministra al feto especialmente. Esto es lógico teniendo en cuenta que la mujer está sometida a un estrés importante y la melatonina es una hormona antioxidante (ya comentado ampliamente en la introducción). Existe una gran

diferencia con otras sustancias como la β -endorfina que aumenta considerablemente durante todo el parto, alcanzando su máximo en el expulsivo³⁷⁹, tal vez porque esta última protege a la mujer contra el dolor y la melatonina está protegiendo al feto del daño cerebral.

En cuanto a la concentración de **triacilglicéridos** (TAG) analizados en la **vena umbilical** de ambos grupos de ligadura (**Figura 4.23**), hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas, en el sentido de más concentración de TAG en el grupo de la ligadura precoz. Lo mismo ocurre en la **arteria umbilical** (**Figura 4.24**), donde también existen diferencias estadísticamente significativas, con más concentración en el grupo de la ligadura precoz.

No existen diferencias en la concentración de **colesterol** en la **vena umbilical** de ambos grupos (**Figura 4.25**), aunque sí se aproxima a la significación estadística. Lo mismo ocurre con los niveles de la **arteria umbilical** de ambos grupos de ligadura (**Figura 4.26**).

La concentración de fosfolípidos en la vena (**Figura 4.27**) o en la arteria umbilical (**Figura 4.28**), tampoco ofrece diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de ligadura.

Por último, también hemos analizado la concentración de **proteínas** tanto en la **vena** (**Figura 4.29**) como en la **arteria umbilical** (**Figura 4.30**), en las muestras de ligadura precoz y ligadura tardía, sin hallar diferencias estadísticamente significativas.

La disminución lipídica en la ligadura tardía puede ser consecuencia de los cambios metabólicos tan intensos que sufre el feto en los últimos tiempos del embarazo, durante el parto y en los primeros momentos de su etapa de recién nacido tal y como señala Herrera^{380,381}. Efectivamente el metabolismo materno per se y la propia placenta propician un aporte lipídico elevado al final de la gestación que contrasta con la intensa lipólisis que el feto sufre tras el nacimiento y que se pone de manifiesto desde los primeros momentos de la vida extrauterina. Esta lipólisis se pondrá de manifiesto antes en los lípidos más simples que en los más complejos, lo que explica las diferencias en triglicéridos, probable en colesterol y ninguna en fosfolípidos.

CAPÍTULO VI
**- CONCLUSIONES/
CONCLUSIONS**

1. No hemos encontrado diferencias significativas en los valores del hemograma (hematíes, hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas) en vena umbilical cuando se practica ligadura precoz o tardía del cordón.
2. No hemos podido demostrar diferencias significativas en la viscosidad ni en arteria ni en vena umbilical según el tipo de ligadura precoz o tardía del cordón.
3. Las cifras de los estimadores bioquímicos (glucosa, urea, creatinina, bilirrubina, proteínas totales y fibrinógeno) no se modifican por el tiempo de ligadura umbilical.
4. No existe relación entre el tipo y el tiempo de alumbramiento según se haga la ligadura precoz o tardía.
5. Estudiando la gasometría en arteria y vena umbilical, hay una mayor pO_2 en arteria cuando practicamos la ligadura tardía, y en estos casos se utilizó menos veces el O_2 en la reanimación del recién nacido.
6. No hemos encontrado diferencias significativas en las concentraciones de melatonina ni en arteria ni en vena umbilical según se efectuase la ligadura del cordón. Sin embargo, se observa que en arteria umbilical la melatonina está más elevada con respecto a la vena lo que habla de una intensa producción de este antioxidante por la pineal fetal durante el parto.
7. Cuando se hace ligadura tardía de cordón umbilical encontramos valores significativos más bajos tanto en arteria como en vena umbilical de triglicéridos y probablemente más bajos de colesterol.

Consideración final

Podemos resumir que no hemos encontrado ningún factor que haga aconsejable la ligadura precoz del cordón umbilical, y por tanto que haya justificado, clínicamente, el abandono de la ligadura tardía en recién nacidos normales a término.

1. We have not found any statistical difference about the blood test when we clamp the umbilical cord either early or late.
2. There are no statistical difference in viscosity in umbilical vein or umbilical artery when we clamp the umbilical cord early or late.
3. Biochemistry is not changed when the umbilical cord is clamped early or late.
4. There is no relationship between the management of the third stage of labour and the way of clamping the umbilical cord, early or late.
5. In the delayed cord clamping group, pO_2 is much higher in both artery and umbilical vein. Also in this group, reanimation with O_2 was not necessary.
6. In both groups, early and late cord clamping, we could not find any statistical difference in melatonin concentration in artery or umbilical vein. On the other hand, our results show that melatonin concentration is higher in the umbilical artery than in the vein. Therefore, we are able to conclude that fetal pineal gland is producing this important antioxidant hormone during labour.
7. In delayed cord clamping, we found that triglyceride and probably cholesterol levels are lower in the artery and umbilical vein.

CAPÍTULO VII

- BIBLIOGRAFÍA

1. Erasmus Darwin. *Zoonomía*. 1801; 3: 302.
2. American Academy of Pediatrics, American College of Obstetricians and Gynecologists, March of Dimes Birth Defects Foundation. Guidelines for perinatal care. Fourth edition. 1997.
3. Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. Attendance at labour and delivery guidelines for obstetrical care. SOGC Policy Statement. 2000, Nº 89.
4. Waugh J, Johnson A, Farkas A. Analysis of cord blood gas at delivery: questionnaire study of practice in the United Kingdom. *BMJ* 2001; 323: 727-728.
5. Mercer JS. Current best evidence: a review of the literature on umbilical cord clamping. *Journal of Midwifery & Women's Health* 2001; 46: 402-414.
6. Judith S, Carlene C, Nelson CNM, Rebeca L, Skovgaard CNM, et al. Umbilical cord clamping: beliefs and practices of American nurse-midwives. *Journal of Midwifery and Women's Health* 2000; 45: 58-66.
7. Oxford Midwives Research Group. A study of the relationship between the delivery to cord clamping interval and the time of cord separation. *Midwifery* 1991; 7: 167-176.
8. Linderkamp O, Nelle M, Kraus M, Zilow EP. The effect of early and late cord clamping on blood viscosity and other hemorheological parameters in full-term neonates. *Acta Paediatr* 1992; 81: 745-750.
9. Nelle M, Zilow EP, Bastert G, Linderkamp O. Effects of Leboyer childbirth on cardiac output, cerebral and gastrointestinal blood flow velocities in full-term neonates. *Am J Perinatol* 1995; 12: 212-216.
10. Nelle M, Kraus M, Bastert G, Linderkamp O. Effects of Leboyer childbirth on left and right systolic time intervals in healthy term neonates. *J Perinat Med* 1996; 24: 513-520.
11. Nelle M, Zillow EP, Kraus M, Bastert G, Linderkamp O. The effect of Leboyer delivery on blood viscosity and other hemorheologic parameters in term neonates. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 189-193.
12. Grajeda R, Pérez-Escamilla R, Dewey KG. Delayed clamping of the umbilical cord improves hematologic status of Guatemalan infants at 2 mo of age. *Am Clin Nutr* 1997; 65: 425-431.
13. Nelson NM, Enkin MW, Saigal S, Bennett KJ, Milner R, Sackett DL. A randomized clinical trial of the Leboyer approach to childbirth. *N Engl J Med* 1980; 302: 655-660.
14. Ibrahim HM, Krouskop RW, Lewis DF, Dhanireddy R. Placental transfusion: umbilical cord clamping and preterm infants. *J Perinatol* 2000; 20: 351-354.
15. Rabe H, Wacker A, Hulskamp G, Hornig-Franz I, Schulze-Everding A, Harms E, et al. A randomized controlled trial of delayed cord clamping in very low birth weight preterm infants. *Eur J Pediatr* 2000; 159: 775-777.
16. Nelle M, Fischer S, Conze S, Beedgen B, Brischke EM, Linderkamp O. Effects of later cord clamping on circulation in prematures. *Pediatr Res* 1998; 44: 420-422.
17. Rabe H, Wacker A, Hulskamp G, Hornig-Franz I, Jorch G. Late cord clamping benefits extrauterine adaptation. *Pediatr Res* 1998; 44: 454-456.

18. McDonnell M, Henderson-Smart DJ. Delayed umbilical cord clamping in preterm infants: a feasibility study. *J Paediatr Child Health* 1997; 33: 308-310.
19. Abrahamson H. Reanimación del recién nacido, 2ª ed., Barcelona, Salvat Editores S.A. 1968: 156-158.
20. Kaser O. Ginecología y Obstetricia, 1ª ed. ,Barcelona, Salvat Editores S.A., 1972, II Tomo: 631-635.
21. Taylor PM, Bright NH, Birchard EL, Derinoz MN, Watson DW: The effects of race, weight loss and the time of clamping of the umbilical cord on neonatal bilirubinemia. *Biol Neonat* 1963; 1: 299-301.
22. De Marsh QB, Windle WF, Alt HL: Blood volume of newborn infant in relation to early and late clamping of umbilical cord. *Am J Dis Childh* 1942; 62: 1123-1128.
23. Papagno L: Umbilical cord clamping. An analysis of a usual neonatological conduct. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 1998; 48: 224-227.
24. Oh W, Wallgren G, Hanson JS, Lind J: The effects of placental transfusion on respiratory mechanics of normal term newborn infants. *Pediatrics* 1967; 40: 6-12.
25. Yao AC, Lind J, Tiisala R, Michelsson K: Placental transfusion in the premature infant with observation on clinical course and outcome. *Acta Paediatr Scand* 1969; 58: 561-566.
26. Arcilla RA, Oh W, Lind J, Blankenship W: Portal and atrial pressures in the newborn period. A comparative study of infants born with early and late clamping of the cord. *Acta Paediatr Scand* 1966; 55: 615-625.
27. Lind J: Physiological adaptation to the placental transfusion: the eleventh blackader lecture. *Can Med Assoc J* 1965; 93: 1091-1100.
28. Linderkamp O, Nelle M, Kraus M, Zilow EP: The effect of early and late cord clamping on blood viscosity and other hemorheological parameters in full-term neonates. *Acta Paediatr* 1992; 81: 745-750.
29. Tiisala R, Tahti E, Lind J: Heart volume variations during first 24 hours of life of infants with early and late clamped umbilical cord. *Ann Paediatr Fenn* 1966; 12: 151-153.
30. Lanzkowsky P: Effects of early and late clamping of umbilical cord on infant's haemoglobin level. *Br Med J* 1960; 2: 1777-1790.
31. Cruz M, Jiménez R, Botet F: Características y cuidados del recién nacido normal. En: Cruz M, ed.: *Tratado de Pediatría*, 7ª ed., Barcelona. Espaxs. S.A. 1994: 96-97.
32. Windle WF: Development of the blood and changes in the blood picture at birth. *J Pediat* 1941; 18: 538-540.
33. Young M, Cottom D: Arterial and venous blood pressure responses during a reduction in blood volume and hypoxia and hypercapnia in infants during the first two days of life. *Pediatrics* 1966; 37: 733-742.
34. Spears RL, Anderson GV, Brotman S. The effect of early versus late cord clamping on signs of respiratory distress. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 95: 564-568.

35. Low JA, Kerr ND, Cochon AR: Plasma and volume of the normal newborn infant and patterns of adjustment in initial 24 hours of the neonatal period . Am J Obstet Gynecol 1963; 86: 893-896.
36. Mercer JS, Nelson CC, Skovgaard RL: Umbilical cord clamping: beliefs and practices of American nurse-midwives. J Midwifery Womens Health 2000; 45: 58-66.
37. Cort RL, Pribyllova H: Placental transfusion and adaptation mechanisms of the newborn in the first days after birth. Cesk Pediatr 1968; 23: 594-598.
38. Frank DJ, Gabriel M: Timing of cord ligation and newborn respiratory distress. Am J Obstet Gynecol 1967; 97: 1142-1144.
39. Moss AJ, Duffie ERJ, Fagan LM: Respiratory distress syndrome in the newborn study on the association of cord clamping and the pathogenesis of distress. JAMA 1963; 48: 184-189.
40. Gunther M: The transfer of blood between baby and placenta in the minutes after birth. Lancet 1957; 250: 1277-1279.
41. Pinotti JA: Distribution of blood volume between the placenta and the newborn infant. Studies of various aspects of 4 methods that change it. Matern Infanc 1970; 29: 175-201.
42. Peltonen T. Placental transfusion: advantage and disadvantage. Eur J Pediatr 1981; 137: 141-146.
43. Usher R, Shephard M, Lind J. The blood volume of the newborn infant and placental transfusion. Acta Paediatr Scand 1963; 52: 497-512.
44. Yao AC, Lind J. Effect of gravity on placental transfusion. Lancet 1969; 294: 505-508.
45. Hohmann M. Early or late cord clamping? A question of optimal time. Wien Klin Wochenschr 1985; 97: 497-500.
46. Kunzel W. Cord clamping at birth - considerations for choosing the right time. Z Geburtshilfe Perinatol 1982; 186: 59-64.
47. Yao AC, Hirvensalo M, Lind J: Placental transfusion-rate and uterine contraction. Lancet 1968; 292: 380-383.
48. Usher R, Shephard M, Lind J: The blood volume of the newborn infant and placental transfusion. Acta Paediatr. 1963; 52: 497-500.
49. Duckman S, Merk H, Lehmann W, Regan E: The importance of gravity in delayed ligation of the umbilical cord. Am J Obstet Gynecol 1953; 66: 1214-1228.
50. Hohmann M: Early or late cord clamping? A question of optimal time. Wien Klin Wochenschr 1985; 97: 497-500.
51. Kunzel W: Cord clamping at birth - Considerations for choosing the right time. Z Geburtshilfe Perinatol 1982; 186: 59-64.
52. Álvarez H, Caldeyro-Barcía R: La fisiología del alumbramiento estudiada mediante el registro de la presión intra placentaria. Arch. Gynecol Obstet 1949; 8: 12-14.

53. Fonseca D: Importancia del aporte de sangre placentaria al niño recién nacido. Su medida por medio del registro ponderal continuo. Arch Pediatr 1962; 7: 444-449.
54. Redmond A, Isana S, Ingall D: Relation of onset of respiration to placental transfusion. Lancet 1965; 286: 283-285.
55. Budin PA. Quel moment doit on practiquer la ligature du cordon ombilical? Progres Med 1875; 3: 750-753.
56. Morley GM. Cord closure: can hasty clamping injure the newborn? OBG Management 1998; 7: 29-36.
57. Yao AC, Moinian M, Lind J. Distribution of blood between infant and placenta after birth. Lancet 1969; 294: 871-873.
58. Maternal Health and Safe Programme. Care in normal birth: a practical guide. Report of the technical working group. Geneva. Maternal and Newborn Health/Safe Motherhood Unit, Family and Reproductive Health, World Health Organization 1997-WHO/FRH/MSM/96.24.
59. Arango Gómez F, Mejía Londoño JC. ¿Cuándo pinzar el cordón umbilical? Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología 2004; 55: 136-145.
60. Serwer GA. Postnatal circulatory adjustments. In Polin RA, Fox WW (eds). Fetal and Neonatal Physiology. Philadelphia: W.B. Saunders; 1992 p. 710-721.
61. Jaykka S. Capillary erection and lung expansion; an experimental study of the effect of liquid pressure applied to the capillary network of excised fetal lungs. Acta Paediatr 1957; 112: 5-14.
62. Avery ME, Frank R, Gribetz I. The inflationary force produced by pulmonary vascular distention in excised lungs; the possible relation of this force to that needed ton inflate the lungs at birth. J Clin Invest 1959; 38: 456-462.
63. Mercer JS, Skovgaard RL. Neonatal transitional physiology: a new paradigm. J Perinat Neonatal Nurs 2002; 15: 56-75.
64. Assali NS, Morris JA: Circulatory and metabolic adjustments of the fetus at birth. Biol Neonate 1964; 7: 141-143.
65. Assali NS: Some aspects of fetal life in utero and the changes at birth. Am J Obstet Gynecol 1967; 97: 324-331.
66. Cassady G: Plasma volume studies in low birth weight infants. Pediatrics 1966; 38: 1020-1027.
67. Holland WW, Young IM: Neonatal blood pressure in relation to maturity, mode of delivery, and condition at birth. Br Med Bull 1956; 5005: 1331-1333.
68. Reynolds SR, Baltimore M: Circulatory adaptations to birth and their clinical implications. Am J Obstet Gynecol 1955; 70: 148-154.
69. Reynolds SR: Circulatory adaptations at birth physiologic and morphologic correlations. N York State J Med 1956; 56: 1809-1810.

70. Wallgreen G, Karlberg P, Lind J: Studies of the circulatory adaptation immediately after birth. *Acta Paediatr Stockh* 1960; 49: 843-845.
71. Bucklers LJ, Usher R: Cardiopulmonary effects of placental transfusion. *J Pediatr* 1965; 67: 239-241.
72. Ibrahim HM, Krouskop RW, Lewis DF, Dhanireddy R: Placental transfusion: umbilical cord clamping and preterm infants. *J Perinatol* 2000; 20: 351-354.
73. Oh W, Lind J, Gessner JH: The circulatory and respiratory adaptation to early and late cord clamping in newborn infants. *Acta Paediatr Scand* 1966; 55: 17-25.
74. Nelle M, Kraus M, Bastert G, Linderkamp O. Effects of Leboyer childbirth on left and right systolic time intervals in healthy term neonates. *J Perinat Med* 1996; 24: 513-520.
75. Lind J. Placental transfusion and cardio-respiratory adaptation of the newborn infant. *Ann Paediatr Fenn* 1968; 14: 1-10.
76. Yao AC, Lind J. Effect of early and late cord clamping on the systolic time intervals of the newborn infant. *Acta Paediatr Scand* 1977; 66: 489-493.
77. Burnard ED, James LS. Atrial pressures and cardiac size in the newborn infant. Relations with degree of birth asphyxia and size of placental transform. *J Pediatr* 1963; 62: 815-819.
78. Yao AC, Lind J, Vuorenkoski V. Expiratory grunting in the late clamped normal neonate. *Pediatrics*. 1971 Dec; 48(6): 865-870.
79. Oh W, Oh MA, Lind J. Renal and cardiovascular effects of body tilting in the newborn infant. A comparative study of infants born with early and late cord clamping. *Biol Neonat* 1966; 10: 76-92.
80. Nelle M, Zilow EP, Bastert G, Linderkamp O: Effect of Leboyer childbirth on cardiac output, cerebral and gastrointestinal blood flow velocities in full-term neonates. *Am J Perinatol* 1995; 12: 212-216.
81. Windle WF. Brain damage by asphyxia at birth. *Scientific American* 1969; 221: 76-84.
82. Myers RE. Two patterns of perinatal brain damage and their conditions of occurrence. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1972; 112: 246-276.
83. Linderkamp O. Placental transfusion: determinants and effects. *Clinics in Perinatology* 1982; 9: 559-592.
84. Philip AG, Saigal S. When should we clamp the umbilical cord? *Neoreviews* 2004; 5: 142-154.
85. American College of Obstetricians and Gynecologists. Umbilical artery blood Acid-Base Analysis. Washington, D.C; 1995. Educational Bulletin 216.
86. Society of Obstetricians and Gynecologists of Canada. Policy statement No. 89. 2000.

87. Mercer JS, Skovgaard RL. Neonatal transitional physiology: a new paradigm. *J Perinat Neonatal Nurs* 2002; 15: 56-75.
88. Erkkola R, Kero P, Kanto J, Korvenranta H, Nanto V, Peltonen T. Delayed cord clamping in cesarean section with general anesthesia. *Am J Perinatol* 1984; 2: 165 - 169.
89. Capasso L, Raimondi F, Capasso A, Crivaro V, Capasso R, Paludetto R. Early cord clamping protects at-risk neonates from polycythemia. *Biology of the Neonate* 2003; 83: 197-200.
90. Doyle JJ, Schmidt B, Blanchette V, Zipursky A: Hematology; in Avery GB, Fletcher MA, Mac Donald MG. *Neonatology: Pathophysiology and Management of the Newborn*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1999: 1045-1091.
91. Georgieff MK, Landon MB, Millis MM. Abnormal iron distribution in infants of diabetic mothers. *J Pediatr* 1990; 117: 455-461.
92. Saigal S, Usher R. Symptomatic neonatal plétora. *Biol Neonate* 1977; 32: 62-72.
93. Bada HS, Korones SB, Pourcyrous M, Wong SP, Wilson WM 3rd, Kolni HW, Ford DL. Asymptomatic syndrome of polycythemic hyperviscosity: Effect of partial plasma exchange transfusion. *J Pediatr* 1992; 120: 579-585.
94. Liem KD, Hopman JC, Oeseburg B, De Haan AF, Kollee LA. The effect of blood transfusion and haemodilution on cerebral oxygenation and haemodynamics in newborn infants investigated by near infrared spectrophotometry. *Eur J Pediatr* 1997; 156:305-310.
95. Rajnik M, Salkowski CA, Thomas KE, Li YY, Rollwagen FM, Vogel SN. Induction of early inflammatory gene expression in a murine model of nonresuscitated, fixed-volume hemorrhage. *Shock* 2002; 17: 322-328.
96. Grether JK, Nelson KB, Dambrosia JM, Philips TM. Interferons and cerebral palsy. *J Pediatr* 1999; 134: 324-332.
97. Botha MC: The management of the umbilical cord in labour. *S Afr J Obstet Gynaecol* 1968; 6: 30-38.
98. Blackburn S, Loper D. *Maternal, fetal and neonatal physiology*. Philadelphia: W B Saunders, 1992.
99. Polin R, Fox W. *Fetal and neonatal physiology*. 2nd ed. Philadelphia: W B Saunders 1998.
100. Fanaroff A, Martin R, editors. *Neonatal-perinatal medicine: diseases of the fetus and infant*, 6th ed. Boston: Mosby 1997.
101. Oh W. Neonatal polycythemia and hyperviscosity. *Pediatr Clin North Am* 1986; 33: 523-532.
102. Van Rheenen P, Brabin BJ. Late umbilical cord-clamping as an intervention for reducing iron deficiency anaemia in term infants in developing and industrialised countries: a systematic review. *Ann Trop Paediatr* 2004; 24: 3-16.

103. Michaelsen KF, Milman N, Samuelson G. A longitudinal study of iron status in healthy Danish infants: effects of early iron status, growth velocity and dietary factors. *Acta Paediatr* 1995; 84: 1035-1044.
104. Grajeda R, Pérez-Escamilla R, Dewey KG. Delayed clamping of the umbilical cord improves hematologic status of Guatemalan infants at 2 months of age. *Am clin Nutr* 1997; 65: 425-431.
105. Mc Cue CM, Garner FB, Hurt WG, Schelin EC, Sharpe AR: Placental transfusion. *J Pediatr* 1968; 72: 15-21.
106. Windle WF: Aspects of foetal physiology. *Modern trends in Obstetrics and Gynaecology*, 1^a ed., St Louis: Butterworth & Co Ltd; 1974. p.152-155.
107. Erkkola R, Kero P, Kanto J, Korvenranta H, Nanto V: Delayed cord clamping in cesarean section with general anesthesia. *Am J Perinatol* 1984; 1: 165-169.
108. Oh W, Lind J: Venous and capillary hematocrit in newborn infants and placental transfusion. *Acta Paediatr Scand* 1966; 55: 38-48.
109. Sisson TRC, Lund CJ, Whalen LE, Telek A: The blood volume of infants. I-The full term infant in the first year of life. *J Pediatr* 1959; 55: 163-166.
110. Duenas Gomez E, Perez Rodriguez N, Sanchez Texido: Efectos de la ligadura precoz y tardía del cordón umbilical en recién nacidos normales. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1980; 37: 679-688.
111. Menchaca F, Caggiamo E, Zuviria EM, De Palma E: Ligadura del cordón umbilical y hematología del recién nacido. *Arch Arg Pediatr* 1942; 18: 52-58.
112. Rucker MP, Va R: Late ligation of the umbilical cord. *Am J Obstet Gynecol* 1949; 58: 1117-32.
113. McDonnell M, Henderson-Smart DJ: Delayed umbilical cord clamping in preterm infants: a feasibility study. *J Paediatr Child Health* 1997; 33: 308-310.
114. Geethanath RM, Ramji S, Thirupuram S, Rao YN: Effect of timing of cord clamping on the iron status of infants at 3 months. *Indian Pediatr* 1997; 34: 103-106.
115. Grajeda R, Perez-Escamilla R, Dewey KG: Delayed clamping of the umbilical cord improves hematologic status of Guatemalan infants at 2 months of age. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 425-431.
116. Nelle M, Zillow EP, Bastert G, Linderkamp O. Effect of Leboyer childbirth on cardiac output, cerebral and gastrointestinal blood flow velocities in full term neonates. *Am J Perinatol* 1995; 12: 212-216.
117. Wardrop CA, Holland BM. The roles and vital importance of placental blood to the newborn infant. *J Perinat Med* 1995; 23: 139-143.
118. Pietra GG, D'Amadio MD, Leventhal MM, Oh W, Braudo JL. Electron microscopy of cutaneous capillaries of newborn infants: effects of placental transfusion. *Pediatrics* 1968; 42: 678-683.
119. Oh W, Lind J. Body temperature of the newborn infant in relation to placental transfusion. *Acta Paediatr Scand* 1967; Suppl 172: 135-136.

120. Oh W, Oh MA, Lind J. Renal function and blood volume in newborn infant related to placental transfusion. *Acta Paediatr Scand* 1966; 55: 197-210.
121. Perez-Escamilla R, Pollitt E, Lonnerdal B, Dewey KG. Infant feeding policies in maternity wards and their effect on breast-feeding success: an overview. *Am J Public Health* 1994; 84: 89-97.
122. Larcen A, Stoltz JF, Gaillard S. La viscosité sanguine: Mesure et applications (syndromes d'hyperviscosité et d'hypoviscosité. *Nouv Pres Med* 1981; 10 : 1411-1415.
123. Chien S, Usami S, Dellenback RJ, Gregersen MI. Shear- dependent deformation of erythrocytes in rheology human blood. *Am J Physiol* 1970; 219: 136-142.
124. Thurston GB. Plasma release-cell layering theory for blood flow. *Biorrheology* 1989; 26: 199-214.
125. Internacional Comité for standardization in haematology. Recommendation for a selected method for the measurement of plasma viscosity. *J Clin Pathol* 1984; 37: 1147-1152.
126. Cooke BM, Stuart J. Automated measurement of plasma viscosity by capillary viscometer. *J Clin Pathol* 1988; 41: 1213-1216.
127. Linderkamp O, Versmold HT, Riegel KP. Contributions of red cells and plasma to blood viscosity in preterms and full-terms and adults. *Pediatrics* 1984; 74: 45-51.
128. Riopel L, Fouron JC, Bard H. Blood viscosity during the neonatal period : The role of plasma and red blood cell type. *J Pediatr* 1982; 100: 449-453.
129. Rivera LM, Rudolph N. Postnatal persistente of capillary venous differences in hematocrit and haemoglobin values in low birth-weight and term infants. *Pediatrics* 1982; 70: 956-957.
130. Black V. Neonatal hyperviscosity syndromes. *Curr Probl Pediatr* 1987; 17: 73-130.
131. Katz J, Rodríguez E, Mandani G, Branson HE. Normal coagulation findings, thrombopenia and peripheral hemoconcentration in neonatal polycythemia 1982; 102 (1): 99-102.
132. Sandhagen B. Analysis of haemorheological variables. Methodology and reference values. *J Med Sci* 1989; 94: 81-87.
133. Wirth FH, Goldberg KE, Lubchenco LO. Hiperviscosidad neonatal. I. Incidencia. *Pediatrics (ed esp)* 1979; 7: 475-478.
134. Schmid-Schönbein H, Volver E. Red cell aggregation and red cell deformability in diabetes. *Diabetes* 1976; 25: 879-902.
135. Barbero-Mari P, García L, Sánchez C, Canteras M, Martin M, Borrajo E. Síndrome de hiperviscosidad en el recién nacido: estudio experimental. *Acta Paediatr Esp* 1985; 43: 174-179.
136. Foley ME: Viscosity, Haematocrit, fibrinogen and plasma proteins in maternal and cord blood. *Br J Obs Gynecol* 1978; 85: 500-504.

137. Reinhart WH, Danoff SJ, King RG, Chien S: Rheology of fetal and maternal blood. *Pediatr Res* 1985; 18: 147-153.
138. Dintenfass L. *Blood Viscosity, Hyperviscosity and Hyperviscosaemia*. N York: MTP Press; 1985.
139. Brun JF, Boulot P, Fons C, Hedon MN, Viala JL, Orsetti A. Paramètres hémorhéologiques pendant l'accouchement normal et la contraction utérine. *Rev Fr Gynécol Obstét* 1991 ; 86 : 148-153.
140. Stuart B, Drumm J, FitzGerald DE, Duignan NM. Fetal blood velocity waveforms in normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1980; 87: 780-785.
141. Arango Gómez F, Mejía Londoño JC. ¿Cuándo pinzar el cordón umbilical? *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología* 2004; 55: 136-145.
142. Arcilla RA, Oh W, Lind J et al. Portal and atrial pressures in the newborn period. *Acta Paediatr Scand* 1966; 55: 615-625.
143. Mentzer W. Polycythemia and hyperviscosity syndrome in newborn infants. *Clinics in Haematology* 1978; 7: 63-74.
144. Muñoz Hoyos A, Uberos Fernández J, Valenzuela Ruiz A, Narbona López E, Augustin Morales M^ªC, et al. Poliglobulia neonatal: Un estudio longitudinal analítico de sus repercusiones neurológicas. *Investig Clin* 1999; 2: 109-114.
145. Shohat M, Merlob P, Reisner SH: Policitemia neonatal (I): Diagnóstico temprano e incidencia en relación con el momento de obtención de la muestra. *Pediatrics* (ed. esp) 1984; 17: 21-24.
146. Saigal S, Usher R. Symptomatic neonatal plethora. *Biol Neonate* 1977; 32: 62-72.
147. Bada HS, Korones SB, Pourcyrous M, Wong SP, Wilson WM 3rd, Kolni HW, et al. Asymptomatic síndrome of polycythemic hyperviscosity: effect of partial plasma exchange transfusión. *J Pediatr* 1992; 120: 579-85.
148. Saigal S, O'Neill A, Surainder Y, Chua LB, Usher R. Placental transfusion and hyperbilirubinemia in the premature. *Pediatrics* 1972; 49: 406-419.
149. Newman TB, Maisels J. Evaluation and treatment of Jaundice in the term Newborn: A Kinder, Gentler Approach.- *Pediatrics* 1992; 89: 809-818.
150. Maisels M, Newman T. Kernicterus in Otherwise Healthy, Breast-Fed Term Newborns. *Pediatrics* 1995; 96: 730-733.
151. Dennery PA, McDonagh AF, Spitz DR, et al. Hyperbilirubinemia results in reduced oxidative injury neonatal Gunn rats exposed to hyperoxia. *Free Radic Biol Med* 1995;19: 395-404.
152. McDonagh AF. Is bilirubin good for you. *Clin Perinatol* 1990;17: 359-370.
153. Lasker MR, Holzman IR. Neonatal jaundice. When to treat, when to watch and wait. *Postgraduate Medecine* 1996;99:187-198.
154. Maisels M, et al the effect of breast-feeding frequency on serum bilirubin levels. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170: 880-883.

- 155.** Falcón FA, Hawkins F Robledo MJ, et al. Hyperbilirubinemia neonatal. *Pediátrika* 1994;14:325-337.
- 156.** Kivlahan C, James E. The natural history of neonatal jaundice. *Pediatrics* 1984; 74: 364-366.
- 157.** Bratlid D. How bilirubin gets into the brain. *Clin Perinatol* 1990; 17: 449-465.
- 158.** Wennberg RP, Ahlfors CE, Bickers R, et al. Abnormal Auditory brainstem response in a newborn infant with hyperbilirubinemia:improvement with exchange transfusion. *J Pediatr* 1982; 100: 624-626.
- 159.** Maisels, MI. Ictericia neonatal. En: Avery G.B. *Neonatología, Fisiopatología y manejo del recién nacido*. 3a. ed. Editorial Médica Panamericana S.A.1190: 544-637.
- 160.** Poland, RL, Ostrea, EM. Neonatal hiperbilirubinemia in: Klaus MS, Fanaroff AA, eds *Care of the high risk neonate 3rd*. Philadelphia, PA:WB Saunders; 1986;239-241.
- 161.** Watchko JF, Oski FA. Kernicterus in preterm newborns: Past, Present, and future. *Pediatrics* 1992; 90:707-715.
- 162.** Hicks BA, Altman RP. The Jaundiced Newborn. *Pediatric Clin NA* 1993; 40:1161-1175.
- 163.** Maisels M, et al the effect of breast-feeding frequency on serum bilirubin llevels. *Am J. Obstet Gynecol* 1994;170: 880-883.
- 164.** Schenider A. Breast milk jaundice in the newborn A real entity. *JAMA* 1986; 255: 3270-3277.
- 165.** Term Newborns. *Pediatrics* 1995; 96: 730-733.
- 166.** Stiehme E, Ryan J, Report of eight cases and effect of breast feeding on incidence and severity of unexplained hyperbilirubinemia. *Am J Dis Child* 1965; 109:212.
- 167.** Bound JP, Harvey PW, Bagsha W: Prevention of pulmonary syndrome of the newborn. *Lancet* 1962; 280: 1200-1203.
- 168.** Lerner AB, Case JD, Takahashy Y. Insolation of melatonin and 5-methoxy-indole-3-acetic acid from bovine pineal gland. *J Biol Chem* 1960, 235: 1992-1997.
- 169.** Wurtman RJ. Axelrod J, Kelli DE. *The pineal*. New York-London: Academia Press 1968.
- 170.** Beck O, Jonsson G, Lundman A. 5-methoxyindoles in pineal gland of cow, pig, sheep and rat. *Naunynscheniedeberg's Arch Pharmacol* 1981; 318: 49-55.
- 171.** Berg O, Borg S, Lundman A. Concentration of 5-methoxyindoles in the human pineal gland. *J Neural Transm* 1982; 54: 111-116.
- 172.** Ebels I, Baleman MGM. Physiological aspect of pineal function in mammals. *Physiol Rev* 1986; 66: 581-605.

- 173.** Larsen BR, Findell PR, Benson B. Preliminary results: Isolation and identification of pineal neurohypophysial hormone-like activity. In: Reiter RJ (eds). The pineal and its hormones. New York: Alan R Liss, 1982: 117-127.
- 174.** Pavel S, Goldstein R, Petruscu M, Popa M. Melatonin vasotocin and REM sep in prepuberal boys. In: Birau N, Schloot W (eds). Melatonin: Currents status and perspectives. Adv Biosciences. New York: Pergamon Press 1981: 343-347.
- 175.** Pavel S. Presence of relatively high concentration of arginine vasotocin in the cerebrospinal fluid of newborn infants. J Endocrinol Metab 1980; 50: 271-273.
- 176.** Frenstrom J. Role of precursor availability in control of monoamine biosynthesis in brain. Physiological Rev 1983; 63: 484-546.
- 177.** Brown GM, Niles LP. Studies on melatonin and other pineal factors. In: Besser GM, Martini (eds). Clinical Endocrinology, Vol II. New York: Academia Press, 1982.
- 178.** Wurtman RJ, Moskowitz M. The pineal organ. N Engl J Med 1977; 296: 1329-1333.
- 179.** Smith JA, Mee TJX, Padwick DJ, Spokes EG. Human post-mortem pineal enzyme activity. Clin Endocrinol 1981; 14: 75-81.
- 180.** Mess B, Ruzsas C. Relationship between suprachiasmatic nuclei and rhythmic activity of the pineal gland. Adv Pineal Res, C, Vol I. London: Libbey, 1986: 149-158.
- 181.** Lincoln G. Melatonin as a seasonal timecue: A commercial store. Nature 1983; 302: 755-756.
- 182.** Reiter RJ. The role of light and age in determining melatonin production in the pineal gland. In: Axelrod J, Fraschini F, Velo P (eds). The pineal gland and its endocrine role. New York: Plenum Press, 1983: 227-242.
- 183.** Illnerova H, Vanecek J. Extension of the rat pineal N-acetyltransferase rhythm in continuous darkness and short photoperiod. Brain Res 1983; 261: 176-179.
- 184.** Reiter RJ. Mini-Review. The melatonin message: Duration versus coincidence hypotheses. Life Sci 1987; 40: 2119-2131.
- 185.** Hamm HE, Takahashi JS, Menaker M. Light-induced decrease of serotonin N-acetyltransferase activity and melatonin in the chicken pineal gland and retina. Brain Res 1983; 226: 287-293.
- 186.** Klein DC, Weller JL. Adrenergic adenosine-3'-5'-monophosphate regulation of serotonin N-acetyl-transferase activity and the temporal relationship of serotonin N-acetyl-transferase activity to synthesis of (H³)-N-acetyl serotonin and (H³)-melatonin in the cultured rat pineal gland. J Pharmacol Exp Ther 1973; 186: 516-527.
- 187.** Smith JA, Padwick DP, Spokes EG. Annual bimodal variation in human pineal hydroxyindole-o-methyltransferase activity. In: Birau N, Schloot W (eds). Melatonin: Current status and perspectives. Adv Biosciences, Vol 29. New York: Pergamon Press, 1982: 192-199.
- 188.** Klein DC, Auerbach DA, Naoboodir AA, Wheler GHT. Indole metabolism in the mammalian pineal gland. In: Reiter RJ (ed). The pineal gland, Vol I. Anatomy and biochemistry. Florida: Boca Raton, CRS Press, 1981: 199-228.

- 189.** Dubocovich ML. Melatonin is a potent modulator of dopamine release in the retina. *Nature* 1983; 306: 782-784.
- 190.** Wurtman RJ, Waldhauser F, Lieberman HR. The secretion and effects of melatonin in humans. In: Axelrod J, Fraschini F, Velo P. *The pineal gland and its endocrine role*. New York: Plenum Press, 1983: 551-574.
- 191.** Miles A, Phibrick DRS, Thomas DR, Grey J. Diagnostic and clinical implications of plasma and salivary melatonin assay. *Clin Chem* 1987; 33: 1295-1297.
- 192.** McIntyre IM, Norman TR, Burrows GD, Armstrong SM. Melatonin rhythm in human plasma and saliva. *J Pineal Res* 1987; 4: 177-183.
- 193.** Nowak R, McMillen IC, Redman J, Short RV. The correlation between serum and salivary melatonin concentrations and urinary 6-hydroxymelatonin sulphate excretion rates: Two non-invasive techniques for monitoring human circadian rhythmicity. *Clin Endocrinol* 1987; 27: 445-452.
- 194.** Brown G, Grota L, Bubenik G, Niles L, Tsui H. Physiologic regulation of melatonin. In: Birau N, Schloot W (eds). Vol 29. Oxford: Pergamon Press, 1981: 95-112.
- 195.** Brown GM, Young SN, Gauthier S, Tsui H, Grota LJ. Melatonin in human cerebrospinal fluid in daytime: Its origin and variation with age. *Life Sci* 1979; 25: 929-936.
- 196.** Cardinali DP: Melatonin. A mammalian pineal hormone. *Endocrine Rev* 1981; 2: 327-346.
- 197.** Ferry G, Ubeaud C, Lambert PH, Bertin S, Coge F, Chomar P, Delagrangé P, Serkiz B, Bouchet JP, Truscott RJ, Boutin JA. Molecular evidence that melatonin is enzymatically oxidized in a different manner than tryptophan. Investigation on both indoleamine-2,3-dioxygenase and myeloperoxidase. *Biochem J* 2005;7: 112-114.
- 198.** Young IM, Leone RM, Francis P, Stovell P, Silman RE. Melatonin is metabolized to N-acetylserotonin and 6-hydroxy-melatonin in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 114-119.
- 199.** Vaughan GN. Melatonin in humans. In: Reiter RJ (ed). *Pineal Research Review*, Vol II. New York, 1984: 149-201.
- 200.** Del Aguila CM, Castillo JL, Acuña D. La glándula pineal en el niño II. Mecanismos de regulación y función neuroendocrina. *Fisiopatología tumoral. Bol Pediatr* 1989; 30: 191-203.
- 201.** Klein DC. Circadian rhythms in the pineal gland. In: Krieger DT (ed). *Endocrine rhythm*. New ork: Raven Press, 1979: 203- 223.
- 202.** Semm P, Demaine C, Vollrath L. Electrical response of pineal cell to melatonin and putative transmitter. *Exp Brain Research* 1981; 43: 361-370.
- 203.** Cardinali DP, Vacas MI, Lowenstein PR. Mechanism for controlling pineal activity. In: Brown GM, Nainwright SD (eds). *Adv Biosciences*, Vol 33. New ork: Pergamon Press, 1985: 1-12.
- 204.** Sugden D, Klein DC. Adrenergic stimulation of rat pineal hydroxyindole-o-methyltransferase. *Brain Res* 1983; 256: 348-351.

205. Sugden D, Klein DC. Beta-adrenergic control of rat pineal hydroxyindol-o-methyltransferase. *Endocrinology* 1983; 113: 348-353.
206. Sugden D, Klein DC. Regulation of rat pineal hydroxyindole-o-methyltransferase in neonatal and adults rats. *J Neurochem* 1983; 40: 1647-1653.
207. Thiele G, Holtorf A, Steinlechner S, Reiter RJ. The influence of different light irradiances on pineal N-acetyl transferase activity and melatonin levels in the cotton rat, *sigmodon hispidus*. *Life Sci* 1983; 33: 1543-1547.
208. Reiter RJ, Steinlechner S, Richardson BA, King TS. Diferencial response of pineal melatonin levels to light at night in laboratory-raised and Hill captured 13-lined ground squirrels (*spermophilus tridecemlineatus*). *Life Sci* 1983; 32: 2625-2629.
209. Brainard GC, Lewy AJ, Menaker M, Fredrickson RH, Miller LS, Weleber RG, Cassone V, Hudson D. Dose-response relationship light irradiance and the suppression of plasma melatonin in human volunTERS. *Brain Res* 1988; 454: 212-218.
210. Vollrath L, Huesgen A, Manz B, Pollow K. Day/night serotonin levels in the pineal gland of male BALB/c mice with melatonin deficiency. *Acta Endocrinol* 1988; 117: 93-98.
211. Sugden D, Klein DC. Regulation of rat pineal alfa-adrenoceptors. *J Neurochem* 1985; 44: 63-67.
212. Sweat FW. Beta-adrenergic binding is increased by melatonin and alpha-adrenergic compounds. *Biochem Biophys Res Comn* 1986; 138: 1196-1202.
213. Bowers ChW, Zigmond RE. The influence of the frecueny and pattern of symphetic nerve activity on serotonin N-acetyltransferase in the rat pineal gland. *J Physiol* 1982; 330: 279-296.
214. Nagle CA, Cardinali DP, Laborde NP, Rosner JM. Sex-dependent changes in rat retinal hydroxyindole-O-methyltransferase. *Endocrinology* 1974; 94: 294-298.
215. Lynch HJ, Deng MH. Pineal responses to stress. *J Neural Transm* 1986; 21: 461-474.
216. Stankov B, Kanchev LN. Influence of acute stress on the pineal activity during day and night time. *Acta Physiol Pol* 1989; 40: 116-125.
217. Cardinali DP, Vacas MI, Rosenstein RE, Etchegoyen GS, Keller Sarmiento MI, Solveyra CG, Pereyra EN. Multifactorial control of pineal melatonin synthesis: An analysis through binding studies. In: Reiter RJ, Fraschini F. *Adv Pineal Res*. London: J Libbey 1987: 51-67.
218. Cardinali DP, Ritta MN. The role of prostaglandins in the neuroendocrine functions: Studies in the pineal gland and the hypothalamus. *Neuroendocrinology* 1983; 36: 152-160.
219. Cardinali DP, Ritta MN, Pereyra E, Gonzalez-Solveyra C. Role of the prostaglandins in rat pineal neuroeffector junction changes in melatonin and norepinefrine release in vitro. *Endocrinology* 1982; 111: 530-534.

- 220.** Cardinali DP, Vacas MI, Keller Sarmiento MI, Morguenstern E. Melatonin action: Sites and posible mechanism in brain. In: Axelrod J, Fraschini F, Velo P. The pineal gland and its endocrine role. New York: Plenum Press 1983: 277-302.
- 221.** Cardinali DP, Vacas MI. Molecular endocrinology of melatonin: Receptors sites in brain and peripheral organs. In: Birau N, Schloot W. Melatonin: Current status and perspectivas. Oxford: Pergamon Press 1981: 237-246.
- 222.** Niles LP, Wong YW, Mishra RK, Brown GM. Melatonin receptors in brain. *Eur J Pharmacol* 1979; 55: 219-220.
- 223.** Brown G, Grota I, Niles LP. Melatonin: Origin, control of circadian rhythm and site action. In: Birau N, Schloot W. Melatonin: Current status and perspectives. *Adv Bioscience*, Vol 29. Oxford: Pergamon Press; 1981. p. 193-196.
- 224.** Morgan PJ, Williams LM. Central melatonin receptors: Implications for a mode of action. *Experientia* 1989; 45: 955-965.
- 225.** Glass JD, Lynch GR. Melatonin: Identification of sites of antigonadal action in mouse brain. *Science* 1981; 214: 821-823.
- 226.** Vacas MI, Cardinali DP. Binding sites for melatonin in bovine pineal gland. *Horm Res* 1980; 13: 121-123.
- 227.** Grota L, Holloway W, Brown G. Melatonin receptors in pineal. In: Birau N, Schloot W. Melatonin: Current status and perspectives. *Adv Biosciences*, Vol 29. Oxford: Pergamon Press; 1981. p. 257-261.
- 228.** Vacas MI, Keller Sarmiento MI, Cardinali DP. Melatonin increases cGMP and decreases cAMP levels in rat medial basal hypothalamus in vitro. *Brain Res* 1981; 225: 207-211.
- 229.** Zisapel N, Egozi Y, Laudon M. Inhibition by melatonin of dopamine release from rat hyphothalamus in vitro: Variations with sex and the estrous cycle. *Neuroendocrinology* 1983; 37: 41-47.
- 230.** Zisapel N, Egozy Y, Laudon M. Inhibition of dopamine release by melatonin: Regional distribution in the rat brain. *Brain Res* 1982; 246: 161-163.
- 231.** Richardson SB, Hollander CS, Prasad JA, Hiroo KA. Somatostatin release from rat hyphothalamus in vitro: Effects of melatonin and serotonin. *Endocrinology* 1981; 109: 602-605.
- 232.** Rosenstein RE, Cardinali DP. Melatonin increases in vivo GABA accumulation in rat hyphothalamus, cerebellum, cerebral cortex and pineal gland. *Brain Res* 1986; 398: 403-406.
- 233.** Fiske VM, Paker KL, Ulmer RA, Hoonow CH, Aziz N. Effect of melatonin alone or in combination with human chorionic gonadotrophin or ovine luteinizing hormone on the in vitro secretion of estrogens or progesterone by granulosa cells of rats. *Endocrinology* 1984; 114: 407-410.
- 234.** Khan R, Daya S, Potgieter B. Evidence for a modulation of the stress response by the pineal gland. *Experientia* 1990; 46: 860-862.

- 235.** Maestroni GJ, Conti A, Pierpaoli W. Role of the pineal gland in immunity. Circadian synthesis and release of melatonin modulates the antibody response and antagonizes the immunosuppressive effect of corticosterone. *J Neuroimmunol* 1986; 13: 19-30.
- 236.** Maestroni GJ, Conti A. Beta-endorphin and dynorphin mimic the circadian immunoenhancing and anti-stress effects of melatonin. *Int J Immunopharmacol* 1989; 11: 333-340.
- 237.** Gimeno MF, Ritta MN, Bonacossa A, Gimeno AL, Cardinali DP. Inhibition by melatonin of prostaglandin synthesis in hypothalamus, uterus and platelets. In: Birau N, Schloot W. *Melatonin: Current status and perspectives*. Adv Bioscience, Vol 29. Oxford: Pergamon Press; 1981. p. 147-150.
- 238.** Pawlikowski M, Juszczak M, Karasek E, Muszynska B, Karasek M. Melatonin inhibits prostaglandin E release from the medial basal hypothalamus of pinealectomized rats. *J Pineal Res* 1984; 1: 317-321.
- 239.** Cardinali DP. Molecular biology of melatonin: Assessment of the "microtubule hypothesis of melatonin action". In: Birau N, Schloot W. *Melatonin: Current status and perspectives*. Adv Biosciences, Vol 29. Oxford: Pergamon Press 1981: 247-255.
- 240.** Launay JM, Lemaitre BJ, Husson HP, Dreux C, Hartmann L, Da Prada M. Melatonin synthesis by rabbit platelets. *Life Sci* 1982; 31: 1487-1494.
- 241.** Brainard GC, Petterborg LJ, Richardson BA, Reiter RJ. Pineal melatonin in Syrian hamster: Circadian and seasonal rhythms in animals maintained under laboratory and natural conditions. *Neuroendocrinology* 1982; 35: 342-348.
- 242.** Birau N, Birau M, Schloot W. Melatonin rhythm in human serum. In: Birau N, Schloot W (eds). *Melatonin: Current status and perspectives*. Adv Biosciences, Vol 29. Oxford: Pergamon Press 1981: 287-295.
- 243.** Waldhauser F, Dietzel M. Daily and annual rhythms in human melatonin secretion: Role in puberty control. *Ann NY Acad Sci* 1985; 453: 205-213.
- 244.** Wurtman RJ, Axelrod J, Phillips L. Melatonin synthesis in the pineal gland: Control by light. *Science* 1963; 142: 1071-1073.
- 245.** Waldhauser F, Wurtman RJ. The secretion and actions of melatonin. In: *Biochemical actions of hormones*. Litwack G (ed). New York: Academic Press, 1983: 187-225.
- 246.** Lewy AJ, Wehr TA, Goodwin FK, Newsome DA, Markey SP. Light suppresses melatonin secretion in humans. *Science* 1980; 210: 1267-1269.
- 247.** McIntyre IM, Norman TR, Burrows GD, Armstrong SM. Quantal melatonin suppression by exposure to low intensity light in man. *Life Sci* 1989; 45: 327-332.
- 248.** McIntyre IM, Norman TR, Burrows GD, Armstrong SM. Human melatonin response to light at different times of the light. *Psychoneuroendocrinology* 1989; 14: 187-193.
- 249.** Birkeland AJ. Plasma melatonin levels and nocturnal transitions between sleep and wakefulness. *Neuroendocrinology* 1982; 34: 126-131.

- 250.** Trinchard-Lugan I, Waldhauser F. The short term secretion pattern of human serum melatonin indicates a pulsatile hormone release. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 663-669.
- 251.** Berga SL, Yen SS. Circadian pattern of plasma melatonin concentrations during four phases of the human cycle. *Neuroendocrinology* 1990; 51: 606-612.
- 252.** Berga SL, Jones KL, Kaufmann S, Yen SS. Nocturnal melatonin levels are unaltered by ovariansuppression in grils with central precocious puberty. *Fertil Steril* 1989; 52: 936-941.
- 253.** Berga SL, Mortola JF, Yen SS. Amplification of nocturnal melatonin secretion in women with functional hypothalamus amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 242-244.
- 254.** Ronnberg L, Kauppila A, Leppaluoto J, Martikainen H, Vakkuri O. Circadian and seasonal variation in human preovulatory follicular fluid melatonin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 492-506.
- 255.** Arendt JA, Wirz-Justice J, Bradtke J, Kornemark M. Long studies on immunoreactive human melatonin. *Ann Clin Biochem* 1979; 16: 307-312.
- 256.** Attanasio A, Rager K, Gupta D. Ontogeny of circadian rhythmicity for melatonin, serotonin, and N-acetylserotonin in humans. *J Pineal Res* 1986; 3: 251-256.
- 257.** Gupta D. The pineal gland in relation to growth and development in children. *J Neural Transm* 1986; 21P: 217-232.
- 258.** Waldhauser F, Weiszenbacher U, Zeitlhuber M, Waldhauser H, Wurtman RJ. Fall in nocturnal serum melatonin levels during prepuberty and pubescence. *Lancet* 1984; 324: 362-365.
- 259.** Waldhauser F, Weiszenbacher G, Tatzler E, Gisinger B, Waldhauser M, Schemper M, Frisch H. Alterations in nocturnal serum melatonin levels in human with growth and aging. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 648-652.
- 260.** Wetterberg L. Melatonin in humans. Physiological and clinical studies. *J Neurol Transm* 1978; 13: 289-310.
- 261.** Silman RE, Leone RM, Hooper RJL. Melatonin, the pineal gland and the human puberty. *Nature* 1979; 282: 301-303.
- 262.** Waldhauser F, Steger H. Changes in melatonin secretion with age and pubescente. *J Neural Transm* 1986; 21P: 183-197.
- 263.** Chan TY, Tang PL. Characterization of the antioxidant effects of melatonin and related indoleamines in vitro. *Endocr Res* 1995; 21: 681-696.
- 264.** Reiter RJ, Tan DX, Cabrera J, D'Arpa D, Sainz RM, Mayo JC, Ramos S. The oxidant/antioxidant network: role f melatonin. *Biol Signals Recept* 1999; 8: 6-14.
- 265.** Reiter RJ, Guerrero JM, García JJ, Acuna-Castroviejo D. Reactive oxygen intermediates, molecular damage, and aging. Relation to melatonin. *Biochem Pharmacol.* 1998; 56: 1265-1272.

- 266.** Chen LD, Tan DX, Reiter RL, Yaga K, Poeggeler B, Kumar P, Manchester LC, Chambers JP. In vivo and in vitro effects of the pineal gland and melatonin on (Ca²⁺ + Mg²⁺) dependent ATPase in cardiac sarcolemma. *J Pineal Res.* 1993; 14: 178-183.
- 267.** Tan DX, Chen DX, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine J* 1993; 1: 57-60.
- 268.** Reiter RJ, Carneiro RC, Oh CS. Melatonin in relation to cellular antioxidative defense mechanism. *Reprod Nutr Dev.* 1999; 39: 367-382.
- 269.** Kaneko M, Beamish RE, Dhalla NS. Depression of heart sarcolemma Ca²⁺-pumping ATPase activity by oxygen free radicals. *Am J Physiol* 1989; 256: 368-374.
- 270.** Tang PL, Xu MF, Qian ZM. Differential behaviour of cell membranes towards iron-induced oxidative damage and the effects of melatonin. *Biol Signals* 1997; 6: 291-300.
- 271.** Reiter RJ, Guerrero JM, García JJ, Acuña-Castroviejo D. Reactive oxygen intermediates, molecular damage, and aging. Relation to melatonin. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 1265-1272.
- 272.** Reiter RJ, Maestroni GJ. Melatonin in relation to the antioxidative defense and immune systems: possible implications for cell and organ transplantation. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 854: 410-424.
- 273.** Benitz-King G, Anton-Tay F. Calmodulin mediates melatonin cytoskeletal effects. *Experientia* 1993; 49: 635-641.
- 274.** Cardinali DP, Golombek DA, Rosenstein RE, Cutrera RA, Esquifino AI. Melatonin site and mechanism of action: single or multiple? *J Pineal Res.* 1997; 23: 32-39.
- 275.** Beyer CE, Steketee JD, Saphier D. Antioxidant properties of melatonin-an emerging mystery. *Neuroreport.* 1996; 7: 1593-596.
- 276.** Gitto E, Romero C, Reiter RJ, Impellizzeri P, Pesce S, Basile M, Antonuccio P, Trimarchi G, Gentile C, Barberi I, Zuccarello B. Melatonin reduces oxidative stress in surgical neonatos. *J Pediatr Surg* 2004; 39: 184-189.
- 277.** Moore-Ede MC, Czisler CH A, Richardson GS. Circadian timekeeping in health and disease. Part. 1. Basic propierties of circadian pacemakers. *New Engl J Med* 1983; 309: 469-476.
- 278.** Aschoff J, Wever R. Spontanperiodik des menschen bei ausschluss aller Zeitgeber. *Naturwissenschaften* 1962; 49: 337-342.
- 279.** Siffre M. *Beyond time.* New York: McGraw-Hill, 1964.
- 280.** Moore RY, Card JP. Visual pathways and the entrainment of circadian rhythms. *Ann NY Acad Sci* 1985; 453: 123-133.
- 281.** Gaston S, Menaker M. Pineal function: The biological clock in the sparrow? *Science* 1968; 160: 1125-1127.
- 282.** Simpson SM, Follett BK. Pineal and hypothalamic pacemakers: Their role regulating circadian rhythmicity in Japanese quail. *J Com Physiol* 1981; 144: 381-389.

- 283.** Gwinner E, Bezinger I. Synchronization of a circadian rhythm in pinealectomized European starlings by daily injections of melatonin. *J Comp Physiol* 1978; 127: 209-213.
- 284.** Kawakami M, Yamaoka S, Yamaguchi T. Influence of light and hormones upon circadian rhythm of EEG slow wave and paradoxical sleep. In: Itoh S, Otaga K, Yoshimura H (eds). *Advances in climatic physiology*. Tokio: Igaku Shoin 1972: 349-376.
- 285.** Scalabrino G, Ferioli ME, Nebuloni R, Fraschini F. Effects of pinealectomy on the circadian rhythms of the activities of polyamine biosynthetic decarboxylases and tyrosine aminotransferase in different organs of the rat. *Endocrinology* 1979; 104: 377-384.
- 286.** Redman J, Armstrong S, Ng KT. Free-running activity rhythms in the rat: Entrainment by melatonin. *Science* 1983; 219: 1089-1091.
- 287.** Cassone VM, Chesworth MJ, Armstrong SM. Entrainment of rat circadian rhythms by daily injections of melatonin depends upon the hypothalamic supraquiasmatic nuclei. *Physiol Behav* 1986; 36: 1111-1121.
- 288.** Vaněck VM, Pavlik A, Illnerová H. Hypothalamic melatonin receptor sites revealed by autoradiography. *Brain Res* 1987; 435: 359-362.
- 289.** Cassone VM, Roberts MH, Moore RY. Melatonin inhibits metabolic activity in the rat suprachiasmatic nuclei. *Neurosci Lett* 1987; 81: 29-34.
- 290.** Armstrong SM. Melatonin: The internal Zeitgeber of mammals? In: Reiter RJ (ed). *Pineal research reviews*. New York: Alan R Liss, 1989: 158-202.
- 291.** Underwood H. The pineal and circadian rhythms. In: Reiter RD (ed). *The pineal gland*. New York: Raven Press, 1984: 109-153.
- 292.** Dean S, Aschoff J. Circadian rhythms of locomotor activity in captive birds and mammals: Their variations with season and latitude. *Oecologia (Berl)* 1975; 18: 269-316.
- 293.** Pittendrigh CS. Circadian rhythms and the circadian organization of living systems. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1960; 25: 159-184.
- 294.** Pittendrigh CS, Daan S. A functional analysis of circadian pacemakers in nocturnal rodents. IV. Pacemaker as clock. *J Comp Physiol* 1976; 106: 291-331.
- 295.** Pohl H. Light pulses entrain the circadian activity rhythm of diurnal rodent (*Ammospermophilus leucurus*). *Comp Biochem Physiol* 1983; 76: 723-729.
- 296.** Lieberman HR. Behavior, sleep and melatonin. *J Neurol Transm* 1986; (Suppl) 233-241.
- 297.** Romijn HJ. Minireview. The pineal, a tranquillizing? *Life Sci* 1978; 23: 2257-2274.
- 298.** Wright J, Aldhous M, Franey C, English J, Arendt J. The effects of exogenous melatonin on endocrine function in man. *Clin Endocrinol* 1986; 24: 375-382.
- 299.** Wollrath L, Semm P, Gammel G. Sleep induction by intranasal application of melatonin. In: Birau N, Schloot W (eds). *Melatonin: Current status and perspectives*. Adv Biosciences. Oxford: Pergamon Press 1981: 327-329.
- 300.** Moore RY, Klein DC. Visual pathways and central neural control of circadian rhythms in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Brain Res* 1974; 71: 17-23.

- 301.** Armstrong SM. Melatonin and circadian control in mammals. *Experientia* 1989; 45: 932-938.
- 302.** Armstrong SM, Cassone VM, Chesworth MJ, Redman JR, Short RV. Synchronization of mammalian circadian rhythms by melatonin. *J Neurol Transm* 1986; (Suppl) 21: 375-394.
- 303.** Bunning E. die endogene tageshythmik als grundlage der photoperiodischen reaktion. *Ber Dtsch Bot Ges* 1936; 54: 590-607.
- 304.** Elliott JA. Circadian rhythms and photoperiodic time measurement in mammals. *Fed Proc Fed Am Soc Exp Biol* 1976; 35: 2339-2346.
- 305.** Elliott JA. Circadian rhythms, entrainment and photoperiodism in the Syrian hamster. In: Follett BK, Follet DE (eds). *Biological Clocks in Seasonal Reproductive Cycles*. New York: John Wiley & Sons 1981: 203-217.
- 306.** Illnerova H, Vanecek J. Two-oscillator structure of the pacemaker controlling the circadian rhythm of N-acetyltransferase in the rat pineal gland. *J Comp Physiol* 1982; 145: 539-548.
- 307.** Tamarkin L, Baird CJ, Almeida OFX. Melatonin: A coordinating signal for mammalian reproduction? *Science* 1985; 277: 714-720.
- 308.** Stetson MH, Tay DE. Time course of sensitivity of golden hamster to melatonin injection throughout the day. *Biol Reprod* 1983; 29: 432-438.
- 309.** Watson-Whitmyre M, Stetson MH. Simulation of peak pineal melatonin release restores sensitivity to evening melatonin injections in pinealectomized hamsters. *Endocrinology* 1983; 112: 763-776.
- 310.** Lew GM. Minireview: Morphological and biochemical changes in the pineal gland in pregnancy. *Life Sci* 1987; 41: 2589-2596.
- 311.** Lemaitre BJ, Bouillie J, Hartmann L. Variations of urinary melatonin excretion in humans during the first 30 years of life. *Clin Chem Acta* 1981; 110: 77-82.
- 312.** Lang U, Geguin PC, Sisonenko PC. Fetal and maternal melatonin concentrations at birth in humans. *J Neural Transm* 1986; (Suppl) 21: 479-480.
- 313.** Okatani Y, Wakatsuki A, Kaneda CH. Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *Journal of Pineal Research* 2000; 28: 89-91.
- 314.** Mitchell MD, Sayers L, Keirse MJNC, Anderson ABM, Turnbull AC. Melatonin in amniotic fluid during human parturation. *Br J Obst Gyn* 1978; 85: 684-686.
- 315.** Mitchell MD, Bibby JG, Sayers L, Anderson ABM, Turnbull AC. Melatonin in the maternal and umbilical circulations during human parturation. *Br J Obst Gyn* 1979; 86: 29-31.
- 316.** Kivelä A, Kauppila A, Leppäluoto J, Vakkuri O. Serum and amniotic fluid melatonin during human labor. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 1065-1069.
- 317.** Evans A, Carter ND, Brooke OG, Smith JA. Circadian rhythms of melatonin and cyclic-AMP in neonates. *Arch Dis Child* 1979; 54: 161-166.

- 318.** Vicente P, García A, Álvarez E, Clemente S, Blázquez E. Presence of melatonin in the umbilical cord blood of full-term human newborns. 1989; 6: 135-140.
- 319.** Rodríguez T. Función pineal, ritmos circadianos y estrés: Interrelaciones y estudio comparativo entre recién nacidos normales, pretérmino y con sufrimiento fetal agudo. Tesis Doctoral, Universidad de Granada, 1990.
- 320.** Yellon SM, Longo LD. Melatonin rhythms in fetal and maternal circulation during pregnancy in sheep. *Am J Physiol* 1987; 252: 799-802.
- 321.** Zemdegs IZ, McMillen IC, Walker DW, Thorburn GD, Novak R. Diurnal rhythms in plasma melatonin concentrations in the fetal sheep and pregnant ewe during late gestation. *Endocrinology* 1988; 123: 284-289.
- 322.** McMillen IC, Nowak R. Maternal pinealectomy abolishes the diurnal rhythm in plasma melatonin concentration in the fetal sheep and pregnant ewe during late gestation. *J Endocrinol* 1989; 120: 459-464.
- 323.** Nowak R, Young IR, McMillen IC. Emergence of the diurnal rhythm in plasma melatonin concentration in newborn lambs delivered to intact or pinealectomized ewes. *J Endocrinol* 1990; 125: 97-102.
- 324.** 553: Klein DC, Namboridii MAA, Auerbach DA. The melatonin rhythm generating system: Developmental aspects. *Life Sci* 1981; 28: 1975-1986.
- 325.** Tan DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Reiter RJ. Melatonin: A potent, endogenous hydroxyl radical scavenger. *Endocrine J* 1993; 1: 57-60.
- 326.** Reiter RJ, Tan DX, Sainz RM, Mayo JC. Melatonin: Reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54: 1299-1321.
- 327.** Cheung RTF. The utility of melatonin in reducing cerebral damage resulting from ischemia and reperfusion. *J Pineal Res* 2003; 34: 153-160.
- 328.** Gitto E, Karbownik M, Reiter RJ, Tan DX, Gitto P, Barberi S, Barberi I. Causes of oxidative stress in the pre- and postnatal period. *Biol Neonate* 2002; 81: 146-157.
- 329.** Fulia F, Gitto E, Cuzzocrea S, Reiter RJ, Dugo L, Gitto P, Barberi S, Cordaro S, Barberi I. Increased levels of malondialdehyde and nitrite/nitrate in the blood of asphyxiated newborns: Reduction by melatonin. *J Pineal Res* 2001; 31: 343-349.
- 330.** Gitto E, Reiter RJ, Cordaro SP, La Rosa M, Chiurazzi P, Trimarchi G, Gitto P, Calabro MP, Barberi I. Oxidative and respiratory parameters in respiratory distress syndrome of preterm newborns: Beneficial effects of melatonin. *Am J Perinatol* 2004. 154-159.
- 331.** Vicente P, García A, Álvarez E, Clemente S, Blázquez E. Presence of melatonin in the umbilical cord blood of full-term human newborns. *J Pineal Res* 1989; 6: 135-140.
- 332.** Muñoz-Hoyos A, Rodríguez-Cabezas T, Molina-Carballo A, Martínez-Sempere JJ, Ruíz-Cosano C, Acuña-Castroviejo D. Melatonin concentration in the umbilical artery and vein in human preterm and term neonates and neonates with acute fetal distress. *J Pineal Res* 1992; 13: 184-191.

- 333.** Muñoz-Hoyos A, Jaldo-Alba F, Molina-Carballo A, Rodríguez-Cabezas T, Molina-Font JA, Acuña-Castroviejo D. Absence of plasma melatonin circadian rhythm during the first 72 hours of life in human infants. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 699-703.
- 334.** González-Merlo J, Escudero JM. Desarrollo y estructura de la placenta, membranas ovulares y líquido amniótico. En: González-Merlo J. Del Sol JR, eds. *Obstetricia 3 de*. Barcelona: Salvat 1988: 83-95.
- 335.** Okatani Y, Wakatsuki A, Shinohara K, Taniguchi K, Fukaya T. Melatonin protects against oxidative mitochondrial damage induced in rat placenta by ischemia and reperfusion. *J Pineal Res* 2001; 31: 173-178.
- 336.** Ochoa JJ, Ramírez-Tortosa MC, Quiles JL, Palomino N, Robles R, Mataix J, Huertas JR. Oxidative stress in erythrocytes from premature and full-term infants during their first 72 h of life. *Free Radical Research* 2003; 37: 317-322..
- 337.** Gitto E, Reiter RJ, Cordaro SP, La Rosa M, Chiurazzi P, Trimarchi G, Gitto P, Calabro MP, Barberi I. Oxidative and inflammatory parameters in respiratory distress syndrome of preterm newborns: beneficial effects of melatonin. *Am J Perinatol* 2004; 21: 209-216.
- 338.** Dorey, C.K., Aouididi, S., Reynaud, X., Dvorak, H.F., and Brown, L.F. Correlation of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor with extraretinal vascularization in the rat. *Archives of Ophthalmology* 1996; 114: 1210-1217.
- 339.** Brion, L.P., Bell, E.F., and Raghuvver, T.S. Vitamin E supplementation for prevention of morbidity and mortality in preterm infants, 2003. *Cochrane Database System Review* 3, CD003665.
- 340.** Buonocore G, Perrone S, Longini M, Vezzosi P, Marzocchi B, Paffetti P, Bracci R. Oxidative stress in preterm neonates at birth and on the seventh day of life. *Pediatric Research* 2002; 52: 46-49.
- 341.** Huertas JR, Palomino R, Ochoa JJ, Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Battino M, Robles R, a Mataix J. Lipid peroxidation and antioxidant in erythrocyte membranes of full term and preterm newborns. *Biofactors* 1998; 8: 133-137.
- 342.** Sosenko I.R.S, Chen Y, Price L.T, Frank L. Failure of premature rabbits to increase lung antioxidant enzyme activities after hyperoxic exposure: antioxidant enzyme gene expression and pharmacological intervention with endotoxin and dexamethasone. *Pediatric Research* 1995; 37: 469-475.
- 343.** Zoban P, Cerny M. Immature lung and acute lung injury. *Physiological Research* 2003; 52: 507-516.
- 344.** Osorio O, José Henry. Metabolismo de los lípidos durante el embarazo. *Rev Colomb Obstet y Ginecol* 2000; 51: 169-174.
- 345.** Salameh W, Mastrogiannis D. Maternal hyperlipidemia in pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1994; 37: 66-68.
- 346.** Coleman RA. The role of the placenta in lipid metabolism and transport. *Seminars in perinatology* 1989; 13: 180-191.
- 347.** Dancis J, Jansen V, Kayden HJ, et al. Transfer across perfused human placenta. Free fatty acids. *Pediatr Res* 1972; 7: 192-194.

- 348.** Booth C, Elphick MC, Hentrickse W, Hull D. Investigation of ¹⁴C linoleic acid conversion into ¹⁴C arachidonic acid and placental transfer of linoleic and palmitic acids across the perfused human placenta. *J Dev Physiol* 1981; 2: 377-379.
- 349.** Campbell FM, Dutta RA, et al. Plasma membrane fatty acid-binding protein (FABPpm) is exclusively located in the maternal facing membranes of the human placenta. *FEBS Lett*, 1995; 375: 227-230.
- 350.** Ross M, Ervin MG, Novak D. Fisiología placentaria y fetal. En: Gabbe SG, Niebyl JR, Simpson JL, eds. *Obstetricia*. Madrid: Marbán, 2004: 37-41.
- 351.** Chambaz J, Ravel D, Manier MC, et al. Essential fatty acids interconversion in the human fetal liver. *Biol Neonate* 1985; 47: 136-140.
- 352.** Jonson HJ, Simpson ER, Carr BR, McDonald PC, Parker RC. The levels of plasma cholesterol in the human fetus throughout gestation. *Pediatric Research* 1982; 16: 682-683.
- 353.** Pocovi M, Ordoñas JM, Grande F. Lecithin: cholesterol acyltransferase, lipids and lipoproteins in maternal and umbilical cord plasma. *Artery* 1983; 11: 264-272.
- 354.** Parker CR, Fortunato SJ, Carr BR, Owen J, Hankins GD, Hauth JC. Apolipoprotein A-1 in umbilical cord blood of newborn infants: relation to gestational age and high-density lipoprotein cholesterol. *Pediatr Res* 1988; 23: 348-51.
- 355.** Internacional Comité for standarization in haematology. Recommendation for a selected method for the measurement of plasma viscosity. *L Clin Pathol* 1984; 37: 1147-1152.
- 356.** Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1984; 1194-1199.
- 357.** Meiattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. *Clin Chem* 1978; 24: 2161-2165.
- 358.** Naito K N. Lipids. Kaplan A et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1984; 918-919 and 570-572.
- 359.** Takayama M, et al. A new enzymatic method for determination of serum choline-containing phospholipids. *Clin Chem* 1977; 79: 93-98.
- 360.** Burtis A et al. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*, 3rd Ed. AACC 1999.
- 361.** Tietz N W et al. *Clinical Guide to Laboratory Tests*, 3rd ed AACC 1995.
- 362.** Koller A. Total serum protein. Kaplan a et al. *Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton* 1984; 1316-1324.
- 363.** Reiter RJ. The Pineal Gland: A Regulator of Regulators *Progress in Psychobiology and Psychological Psychology*, 1980; 9: 323-355.

- 364.** Alexander H, Manz B, et al. Serum melatonin concentration in Gynaecological Practice (Anorexia Nervosa, Polycystic Ovary Syndrome, and During Human Menopausal Gonadotropin Stimulation) and the influence of aMT on mononuclear cells in vitro; Murison, R (ed): Endocrine and Nutritional Control of Basic Biological Functions, Toronto (Canada) 1991: 491-496.
- 365.** Beischer NA, Mackay E, Colditz P. Obstetrics and the Newborn: An Illustrated Textbook. 3rd ed. London: W.B. Saunders 1997.
- 366.** Cunningham FG. Williams Obstetrics. 21 st ed. New York: Medical Publishing Division 2001.
- 367.** Chamberlain G, ed. Obstetrics by 10 teachers. 16 th ed. Boston: Arnold 1995.
- 368.** Miller AW, Hanretty KP. Obstetrics Illustrated. 5 ed. New York: Churchill Livingstone 1997.
- 369.** Enkin M, Keirse MJ, Neilson J, et al. A guide to effective care in pregnancy and childbirth. 3rd ed. New York: Oxford University Press 2000.
- 370.** Goetzman B. Delivery room management of the newborn. In: Niswander KR, Evans A, eds. Manual of Obstetrics. Boston: Little, Brown and Company 1991.
- 371.** Moore T, Reiter R, Rebar R, Baker V, eds. Gynecology and Obstetrics: A Longitudinal Approach. New York: Churchill Livingstone; 1993.
- 372.** Ramamurthy RS, Berlinga M,. Postnatal alteration in hematocrit and viscosity in normal and polycythemic infants. J prdiatr. 1987; 110: 929-34.
- 373.** Rogers J, Wood J, McCandlish R, Ayers S, Truesdale A, Elbourne D. Active versus expectant management of third stage of labour: The Hinchingsbrooke randomised controlled trial. Lancet 1998; 351: 693-699.
- 374.** Prendiville WJ, Elbourne D, McDonald S. Active versus expectant management of the third stage of labour (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 3, 1999. Oxford: Update Software.
- 375.** Walsh S. Maternal effects of early and late clamping of the umbilical cord. *Lancet* 1968; 292: 997-999.
- 376.** Gilbert L, Porter W, Brown V. Postpartum haemorrhage- a continuing problem. Br J Obstet Gynaecol 1987; 94: 67-71.
- 377.** Doolittle J, Moritz C. *Obstet Gynecol* 1966; 27:529-532.
- 378.** Lapid O. Management of the third stage of labour with particular reference to reduction of feto-maternal transfusion. BMJ 1971; 1:721-3.
- 379.** Fajardo MC, Florido J, Villaverde C, Oltras CM, González-Ramírez AR, González-Gómez F. Plasma levels of beta-endorphin and ACTH during labor and immediate puerperium. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1994; 55:105-8.
- 380.** Herrera E, Amuskivar E, López-Soldado I, Ortega H. Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. Horm Res 2006; 65 Suppl 3:59-64.

381. Herrera E, Amuskivar E. Lipid metabolism in the fetus and the newborn. *Diabetes Metab Res Rev* 2000; 16:2002-2010