

ESTUDIO COMPARATIVO LIGADURA PRECOZ VS LIGADURA TARDÍA DEL CORDÓN UMBILICAL:

**enzimas antioxidantes en citosol de
eritrocito, y desarrollo psicomotor
infantil.**



Tesis Doctoral María C. Garrido Sánchez

Abril 2008

AGRADECIMIENTOS.

No quiero de dejar de dedicar este apartado de agradecimientos a toda la gente que me ha ayudado en la elaboración de este texto en cualquiera de sus etapas, y muy especialmente a los que confiaron en mí sin conocerme, como mis compañeras y amigas Catalina de Paco y Sonia Prados, ellas no sólo me aceptaron en su proyecto, también me ayudaron y enseñaron a procesar muestras en el laboratorio.

Quiero agradecer a mis directores de tesis toda la ayuda que me han ofrecido y todas las horas que han dedicado a ayudarme para que este trabajo pudiera ver la luz; así como a todo el personal de Obstetricia y Ginecología del H.C.U. “San Cecilio” que han aportado su granito de arena para que esto fuera posible, un abrazo a todos ellos.

También quiero hacer una mención muy especial a Don Luís Navarrete, que siempre tuvo abiertas para mí las puertas de su despacho y de su casa; puso a mi alcance la posibilidad de participar en un bonito proyecto dentro de un grupo de trabajo que ya había comenzado su andadura. Estuvo disponible para resolver todas mis dudas, incertidumbres, inseguridades, etc... en el momento en el que se presentaban, y algunas de ellas en reiteradas ocasiones. Sin la menor duda este trabajo no habría sido posible sin su aportación inmensurable a todas luces, su infinita paciencia e increíble calidad humana que al final hizo un gesto hermosísimo de generosidad con sus compañeros. Es, sin duda, un ejemplo para todos nosotros.

A Serafín, quien con su apoyo y comprensión hizo todo más sencillo.

A mis padres, sin cuyo ejemplo de vida nada habría sido posible.

ÍNDICE:

CAPÍTULO I.

1. <u>Resumen del proyecto</u>	11
---	----

CAPÍTULO II.

2. <u>Introducción, estado actual de los conocimientos</u>	15
---	----

(I) EL CORDÓN UMBILICAL	17
2- El cordón umbilical	19
2.1.1. Concepto de ligadura precoz.....	19
2.1.2. Concepto de ligadura tardía.....	19
2.1.3. Conceptos fisiológicos.....	20
- Transfusión placentaria.....	20
- Factores que intervienen en el pasaje de sangre desde la placenta hasta el neonato.....	20
- Método de incremento del peso del neonato.....	21
3- Pinzamiento del cordón umbilical y adaptación neonatal	22
3.1. Modificaciones cardiopulmonares.....	23
A) Presión arterial.....	23
B) Presión en la arteria pulmonar.....	23
C) Presión venosa central y portal.....	23
D) Presión en las cavidades auriculares.....	23
E) Tiempo de intervalos sistólico derecho e izquierdo.....	24
F) Diámetro cardíaco.....	24
3.2. Modificaciones a nivel respiratorio.....	25
I. Frecuencia respiratoria.....	25
II. Pruebas de funcionalidad pulmonar.....	25
3.3. Modificaciones renales.....	25
3.4. Modificaciones en el flujo cerebral.....	25
4- Ligadura precoz del cordón umbilical	25
5- Ligadura tardía del cordón umbilical	27
5.1. Efectos beneficiosos de la ligadura tardía.....	27
5.1.1. Beneficios hematológicos.....	27
5.1.1.1. Volemia, volumen de eritrocitos y volumen plasmático.....	29
5.1.1.2. Hematocrito, hemoglobina, número de eritrocitos.....	29
5.1.1.3. Reserva de hierro.....	30
5.1.1.4. Necesidades de transfusión sanguínea y de albúmina.....	30
5.1.2. Beneficios cardiopulmonares.....	30
5.1.3. Otros beneficios potenciales.....	31
5.2. Efectos adversos de la ligadura tardía.....	31
5.2.1. Hiperviscosidad.....	31
5.2.1.1. La sangre. Un fluido viscoelástico.....	32
5.2.1.2. Viscosidad y fracción proteica.....	32
5.2.1.3. Papel del fibrinógeno.....	33
5.2.1.4. Comportamiento hemorreológico de la fase globular sanguínea.....	33
5.2.1.5. Reología de la sangre.....	33

5.2.1.6. Repercusiones del hematocrito sobre la viscosidad sanguínea.....	34
5.2.1.7. Influencia de la temperatura sobre la viscosidad.....	35
5.2.1.8. Importancia de la serie blanca y plaquetaria en el síndrome de hiperviscosidad.....	35
5.2.1.9. El cordón umbilical como aproximación a la hemorreología fetal.....	35
5.2.1.10. Modificaciones hemorreológicas durante el parto.....	36
5.2.1.11. Adaptación fisiológica a la hiperviscosidad.....	36
A) Policitemia.....	36
B) Hiperbilirrubinemia.....	37
B.1. Toxicidad de la bilirrubina.....	38
B.2. Encefalopatía bilirrubínica.....	38
B.3. Ictericia fisiológica del recién nacido.....	39
C) Taquipnea transitoria del recién nacido.....	39
(II) ESTRÉS OXIDATIVO	
6. Radicales libres.....	40
6.1. Recuerdo histórico.....	40
6.2. Definición de Radical Libre.....	42
6.3. Tipos de radicales libres.....	43
6.3.1. Radical superóxido.....	43
6.3.2. Peróxido de hidrógeno.....	44
6.3.3. Radical hidroxilo.....	44
6.3.4. Oxígeno singlete.....	45
6.4. Balance y estrés oxidativo.....	46
6.5. Mecanismos celulares de producción de radicales libres.....	46
6.5.1. Cadena respiratoria mitocondrial.....	47
6.5.1.1. Distribución de enzimas en las membranas mitocondriales.....	48
6.5.1.2. Metabolismo oxidativo mitocondrial.....	49
6.5.1.3. La cadena respiratoria.....	51
6.5.1.4. Producción mitocondrial de especies reactivas de oxígeno.....	54
6.5.1.5. Papel de la producción mitocondrial de O ₂ ⁻ en los procesos tóxicos.....	54
6.5.1.6. Papel de la producción mitocondrial de radicales libres en la apoptosis.....	55
6.5.1.7. Formación de óxido nítrico por la mitocondria.....	55
6.5.2. Xantino oxidasa.....	57
6.5.3. Metabolismo del ácido araquidónico.....	57
6.5.4. Fagocitos y otras fuentes de radicales.....	57
6.5.5. Metales en la producción de radicales libres.....	58
6.5.6. Activación de xenobióticos.....	59
6.5.7. Radiaciones ionizantes.....	60
6.6. Efectos de los radicales libres en los sistemas biológicos.....	60
6.6.1. Hidratos de carbono.....	60
6.6.2. ADN.....	61
6.6.3. Proteínas.....	61
6.6.4. Lípidos.....	62

6.6.4.1. Otras consecuencias biológicas de la peroxidación lipídica.....	64
6.6.4.2. Factores dietéticos que modifican la peroxidación lipídica.....	65
6.7. Defensas endógenas contra la acción de los radicales libres y los hidroperóxidos.	67
6.7.1. Mecanismos enzimáticos.....	68
6.7.1.1. Superóxido dismutasa.....	68
6.7.1.2. Catalasa.....	68
6.7.1.3. Glutación peroxidasa.....	69
6.7.1.3. Glutación reductasa.....	70
6.7.2. Mecanismos no enzimáticos.....	71
6.7.2.1. Vitamina E (alfa-tocoferol).....	71
6.7.2.2. Ubiquinona (coenzima Q ₁₀).....	71
6.7.2.3. Beta-carotenos.....	72
6.7.2.4. Ácido ascórbico.....	72
6.7.2.5. Glutación.....	73
6.7.2.6. Melatonina.....	73
6.7.2.7. Otros.....	74
6.7.3. Utilidad clínica de los antioxidantes.....	74
6.7.3. 1. Antioxidantes en el plasma.....	74
6.7.3. 2. Antioxidantes en el embarazo.....	75
6.8. Características generales de la membrana eritrocitaria	76
6.8.1. Proteínas.....	77
6.8.1.1. Citoesqueleto del glóbulo rojo.....	78
6.8.1.2. Proteínas intrínsecas.....	78
6.8.2. Lípidos.....	78
6.8.2.1. Colesterol no esterificado.....	78
6.8.2.2. Glucolípidos.....	78
6.8.2.3. Fosfolípidos.....	78
6.8.3. Actividad antioxidante en el eritrocito.....	81
6.8.3.1. Ontogenia de enzimas antioxidantes en el eritrocito.....	81
6.8.3.2. Relación entre enzimas antioxidantes eritrocitarias y bilirrubina.....	86
6.8.3.3. Enzimas antioxidantes eritrocitarios y cromosopatías.....	86
6.8.3.4. Enzimas antioxidantes eritrocitarios y patología materna.....	86
6.9. Implicaciones de los radicales libres de oxígeno en el embarazo, el parto y el neonato	87
6.9.1. Embarazo y parto.....	87
6.9.1.1. Transferencia de gases entre feto y placenta.....	89
6.9.1.2. Óxido nítrico.....	91
6.9.1.3. Parto pretérmino.....	93
6.9.1.4. Preeclampsia.....	94
6.9.1.5. Rotura prematura de membranas.....	97
I. Composición de la membrana corioamniótica.....	97
II. Etiología de la RPM.....	98
6.9.1.6. Diabetes gestacional.....	101
6.9.2. Neonato.....	101
6.9.2.1. Adaptación postnatal a la hiperoxia.....	103
6.9.2.2. Capacidad antioxidante en el periodo neonatal.....	104

6.9.2.3. Patologías en neonatos por radicales libres.....	104
6.9.2.3. a. Retinopatía del prematuro.....	105
6.9.2.3. b. Displasia broncopulmonar.....	106
6.9.2.3. c. Hipertensión pulmonar persistente neonatal.....	109
6.9.3. d. Persistencia del ductus arterioso.....	109
6.9.2.3. e. Enteritis necrótica.....	109
6.9.2.3. f. Encefalopatía hipóxico-isquémica.....	110
6.9.2.3. g. Hemorragia intraventricular.....	111
6.9.2.3. h. Fenilketonuria.....	111
6.9.2.3. i. Síndrome de muerte súbita.....	112
6.9.3. Biomarcadores.....	112

(III) DESARROLLO PSICOMOTOR.

7. Desarrollo psicomotor y sociedad.....	113
7.1. Desarrollo infantil, estado de salud materno y ambiente.....	115
7.1.1. Desarrollo infantil y trastornos metabólicos.....	115
7.1.2. Desarrollo infantil y epilepsia.....	116
7.1.3. Desarrollo infantil y adicciones.....	116
7.1.4. Desarrollo infantil y ambiente.....	117
7.2. Desarrollo infantil en situaciones patológicas.....	118
7.2.1. Complicaciones en el periodo neonatal.....	118
7.2.1.1. Prematuridad.....	118
7.2.1.2. Bajo peso en el nacimiento.....	119
7.2.1.3. Anoxia- hipoxemia. Acidosis fetal.....	120
7.2.2. Complicaciones en el periodo neonatal.....	120
7.2.2.1. Infecciones.....	120
7.2.2.2. Patología pulmonar.....	120
7.2.2.3. Hemorragia periventricular.....	121
7.2.2.4. Enterocolitis necrotizante.....	121
7.2.2.5. Enfermedades congénitas.....	121
7.2.2.6. Malformaciones.....	122
7.3. Determinantes de laboratorio del desarrollo.....	123
7.4. Sustancias implicadas en el desarrollo.....	124
7.4.1. Inhalación de NO.....	124
7.4.2. Indometacina.....	124
7.4.3. Nutrición.....	125
7.4.4. Antioxidantes.....	126
7.4.5. Otras sustancias.....	127
A. EPO.....	127
B. Tiroxina.....	127
C. Sulfato de Magnesio.....	127
D. Dexametasona.....	128
7.5. Métodos diagnósticos electrofisiológicos y por la imagen de los trastornos del desarrollo.....	128
7.5. a) RMN.....	128
7.5. b) ECO.....	128
7.5. c) ECO-Doppler.....	129
7.5. d) Potenciales visuales.....	129
7.5. e) Electromiografía.....	129
7.5. f) Electroencefalograma.....	129

7.5. g) Eventos cardiorrespiratorios.....	130
---	-----

CAPÍTULO III.

8. <u>Hipótesis de trabajo</u>	133
9. <u>Objetivos</u>	133
10. <u>Pertinencia y aportación del estudio</u>	134

CAPÍTULO IV

11. <u>Material y métodos</u>	139
11.1. <i>Material, sujetos de estudio</i>	139
11.1.1. Sujetos de estudio.....	139
11.1.2. Método: Recogida de muestras.....	140

FICHA I: HOJA DE RECOGIDA DE DATOS.
FICHA II: HOJA DE EVALUACIÓN DEL TEST DE BRUNET-LÈZINE.
FICHA III: HOJA DE NIVEL DEL TEST DE BRUNET-LÈZINE.

11.1.3. Material, grupos experimentales.....	142
11.1.4. Caracteres a fijar y estudiar en cada uno de los grupos experimentales.....	144
11.1.4.1. Edad materna.....	144
11.1.4.2. Edad gestacional.....	145
11.1.4.3. Dilatación en centímetros a la entrada a la sala de partos.....	145
11.1.4.4. Duración del periodo de expulsivo.....	145
11.1.4.5. Duración de la dilatación en minutos.....	146
11.1.4.6. Índice de velocidad de la dilatación (cm. /min).....	146
11.1.4.7. Paridad.....	146
11.1.4.8. Fumadora.....	146
11.1.4.9. Forma de inicio del parto.....	147
11.1.4.10. Empleo de epidural.....	147
11.1.4.11. Líquido amniótico.....	148
11.1.4.12. Registro cardiotocográfico de la frecuencia cardíaca fetal.....	148
11.1.4.13. Circular del cordón umbilical.....	149
11.1.4.14. Sexo del recién nacido.....	151
11.1.4.15. Comprobación de homogeneidad de la muestra para test de Brunet-Lèzine Revisado.....	152
11.2. <i>Método de trabajo</i>	163
11.2.1. Obtención de membranas de eritrocito.....	163
11.2.2. Contenido proteico de citosol.....	163
11.2.3. Determinación de la actividad catalasa.....	163
11.2.4. Determinación de la actividad de la glutatión peroxidasa.....	164

11.2.5. Realización del test de Brunet-Lèzine Revisado.....	164
11.3. Método estadístico e informático.....	167

CAPÍTULO V

<u>12. Resultados</u>	169
------------------------------------	-----

CAPÍTULO VI

<u>13. Discusión</u>	257
-----------------------------------	-----

CAPÍTULO VII

<u>14. Conclusiones</u>	265
--------------------------------------	-----

CAPÍTULO VII

<u>15. Bibliografía.</u>	269
---------------------------------------	-----

CAPÍTULO I

RESUMEN.

RESUMEN DEL PROYECTO .

Los mamíferos presentan una tendencia natural a esperar que se interrumpa la circulación espontáneamente, sin necesidad de clampar el cordón umbilical, y así ha ocurrido con los humanos en la mayoría de su historia hasta que se introdujo la práctica de la ligadura precoz en los centros hospitalarios, sin que esto 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, 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 cada uno de los cordones umbilicales hicimos un estudio de enzimas antioxidantes del citosol del eritrocito, tales como la catalasa, la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, así como de vitamina E, Coenzima Q e hidroperóxidos de la membrana de los eritrocitos.

Además llevamos a cabo un seguimiento -del Cociente de Desarrollo- de cada uno de los niños de nuestro estudio, que consistió en una serie de visitas en las que se le realizó en test de “Brunet-Lézine revisado, escala de desarrollo psicomotor de la primera infancia”. Utilizamos este “baby test” por ser riguroso, con pruebas muy claras, de técnica fácil de aplicar que exige el material más simple posible dando lugar a un comportamiento inmediato e inequívoco; y que consta además de una serie de preguntas dirigidas a la madre sobre algunos comportamientos imposibles de provocar y por tanto de explorar en la consulta y que son de gran importancia para juzgar el desarrollo. A cada niño, se realizaron dos controles, a los 14 y a los 17 meses del nacimiento.

Estos hallazgos fueron estudiados en una base de datos SPSS 12.0 y analizados estadísticamente encontrando en los resultados diferencias estadísticamente significativas entre ambos tipos de ligadura, tanto en lo referente a la actividad enzimática antioxidante, como en lo referente al desarrollo psicomotor posterior de los niños sujetos de estudio, en ambos casos a favor del grupo sometidos a ligadura tardía.

CAPÍTULO II

INTRODUCCIÓN

ESTADO ACTUAL DE LOS CONOCIMIENTOS

2. INTRODUCCIÓN .

Esta tesis Doctoral tiene un carácter interdepartamental y:

Realizada bajo la dirección de los Profesores:

- D. Julio José Ochoa Herrera.
- D. Jesús Florido Navío.
- D. Antonio Muñoz Hoyos.

Ha sido realizada en:

- El Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Granada (Director: Prof. Luis Navarrete López-Cózar).
- El Instituto de Nutrición Y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Granada (Director: Prof. Emilio Martínez de Victoria y Muñoz).

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.

2. EL CORDÓN UMBILICAL .

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



Figura 1. El cordón umbilical

mayor que la de las arterias, pero sus paredes son más finas, lo que le confiere una posibilidad de aplastamiento mayor.

El pinzamiento del cordón umbilical se suele hacer de forma mecánica y casi inmediata al nacimiento sin considerar las posibles implicaciones para madre e hijo, y sin plantearse el por-qué de acabar con una práctica milenaria en todos los mamíferos, como es esperar el cese de la circulación placentaria antes de la ligadura del cordón umbilical.

Prácticamente no hay acuerdo sobre el momento adecuado para el pinzamiento del cordón umbilical tras el nacimiento a pesar de décadas de discusión, al igual que 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; 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. Esta recomendación también es dada por el Colegio Real de Obstetras y Ginecólogos del Reino Unido [Waugh, Johnson, et al. 2001 #10].

En 1985, en una reunión de la OMS para la Región Europea que tuvo lugar en Brasil, se establecieron una serie de recomendaciones para la atención del parto normal. En ellas se reconoce que no existe una clara evidencia para fomentar la ligadura precoz del cordón umbilical de forma indiscriminada, y que debería usarse con cautela hasta tener nuevos estudios clínicos que lo clarifiquen.

En una encuesta realizada a los miembros del Colegio Americano de Matronas [Mercer 2001 #420] sobre el momento en que realizaban la ligadura del cordón umbilical, se comprobó que el 35% esperaban al cese del latido de la vena umbilical y el 26% lo hacían antes del minuto. Las razones argumentadas en el primer caso 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 umbilical³¹⁴.

La mayoría de los autores están de acuerdo en que no existen evidencias suficientes para evaluar cualquiera de los criterios.

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.

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 nacimiento^{275 340-342 436} o el cese del latido de la vena umbilical^{175 344}. Para los pretérmino, el término “tardía” se refiere a no más de 30-45 segundos^{215 304 396 397 397}. En la literatura, se considera ligadura precoz (LP) cuando el pinzamiento del cordón umbilical se realiza antes del minuto^{344 436}, aunque en dos estudios se considera antes de 20 segundos tras el nacimiento³⁹⁷.

2.1. CONCEPTO DE LIGADURA PRECOZ DEL CORDÓN UMBILICAL .

El tiempo con el que se considera que la ligadura es precoz es variable entre los diferentes autores:

- Taylor⁴⁸⁸ y Papagno³⁵⁸: de inmediato.
- Oh³⁵⁸: en los primeros cinco segundos.
- Yao⁵⁴⁹, Arcilla¹³, Lind²⁷¹ y Linderkamp²⁷⁵: a los diez segundos.
- Tiisala⁴⁹⁴ y Lanzkowsky²⁶⁰: a los quince segundos.
- Young y Cottom⁵⁵⁸: a los treinta segundos.
- Spears⁴⁶⁶, Low²⁸⁰ y Mercer³¹³: en el primer minuto.
- Cort y Pribylova³⁹¹: antes de la primera respiración.
- Frank y Gabriel¹⁵⁰: antes de las dos primeras respiraciones.

2.2. CONCEPTO DE LIGADURA TARDÍA DEL CORDÓN UMBILICAL .

También es muy variable el tiempo con el que consideran los diferentes autores que la ligadura es tardía:

- Taylor⁴⁸⁸: entre el primer y el tercer minuto.
- Tiisala⁴⁹⁴, Yao⁵⁴⁹ y Linderkamp²⁷⁵: al tercer minuto.
- Cort y Pribylová³⁹¹: después del tercer minuto.
- Oh³⁵⁸: entre el tercer y el quinto minuto.
- Lind²⁷¹: al quinto minuto.
- Frank y Gabriel¹⁵⁰ y Moss³²⁷: después de dos respiraciones.
- Arcilla¹³, Papagno³⁶⁹ y Mercer³¹³: después del cese de los latidos del cordón.
- Gunther¹⁸³: después del alumbramiento.
- Lanzkowsky²⁶⁰: después del alumbramiento y cuatro a cinco expresiones del cordón.

La bibliografía nos muestra que la elección del tipo de pinzamiento del cordón umbilical, es un tema controvertido desde hace muchos años¹⁸³.

En los 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.⁵⁰³, 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 éste⁵⁴⁷.

Linderkamp y cols.²⁷⁵ 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.

2.3. CONCEPTOS FISIOLÓGICOS.

Transfusión placentaria.-

Ha sido descrita por muchos autores, tanto el volumen de sangre que llega al recién nacido procedente de la placenta como el tiempo en el que ocurre. Muchos autores clásicos señalan 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%.

Gunther¹⁸³ por su parte, constató la cantidad de sangre adicional recibida por el neonato, que sería diferente dependiendo del momento del pinzamiento del cordón (desde 0.8 hasta el 4.7% de su peso corporal).

Según Yao⁵⁴⁶, este volumen puede representar el 55% de la volemia del neonato, mientras que Usher⁵⁰³ refiere que el volumen sanguíneo neonatal aumenta en un 61% cuando se liga el cordón a los cinco minutos de vida.

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

a) Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el pinzamiento del cordón umbilical:

El 50% de la transfusión placentaria pasa al neonato en el primer minuto⁵⁰³, a los cinco minutos, habría recibido aproximadamente el 75% de la sangre placentaria⁵⁴⁶. A partir de este momento la transfusión placentaria es de escasa magnitud.

b) Nivel hidrostático existente entre la altura del neonato con relación a la madre:

Duckman¹²⁹ comprobó que el neonato recibe mayor cantidad de sangre cuando es mantenido por debajo del nivel materno que por encima de dicho nivel, a su vez, Hohmann²⁰⁶ asegura que es imprescindible una diferencia significativa de presión hidrostática entre la placenta y el feto para que se produzca la transfusión placentaria.

En su estudio, Kuncel²⁵⁶ 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.

c) La contractilidad uterina espontánea:

En cada contracción uterina del tercer periodo del parto se produce un paso de sangre hacia el neonato^{183 256}.

d) La expresión manual del cordón umbilical y del cuerpo uterino:

Según algunos autores³⁸⁴, 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, y la expresión manual del útero podría transferir al neonato mayor cantidad de sangre que la expresión manual del cordón umbilical.

e) La medicación materna con metilergometrina:

Intensificaría la contractilidad uterina, y ello aumentaría la transfusión placentaria, algunos autores ⁵⁴⁶ afirman que en los treinta segundos después del nacimiento se acelera el paso de sangre al neonato, debido a una intensificación de la contractilidad uterina.

f) La influencia ejercida por el inicio de la respiración pulmonar:

Aún está en discusión. Redmond⁴⁰⁶ constató que la transfusión placentaria era mayor cuando el cordón umbilical era pinzado después de iniciada la respiración. Sin embargo, Yao⁵⁴⁶ 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.

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, se llegó a estimar un aumento de peso de cien gramos en los tres primeros minutos de vida y lo atribuyó a dicha transfusión. Pinotti³⁸⁴, encontró diferencias estadísticamente significativas entre los pesos de neonatos antes y después de recibir la transfusión placentaria. Gunther¹⁸³ y otros autores 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.

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 eritrocitos, los cuales al destruirse por hemólisis añaden alrededor de 50 mg de hierro a las reservas del neonato, que tan importantes le son⁵⁵¹.

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)^{311 340 341 547}. 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 placentaria³⁷⁵ 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 hematocrito³⁴⁰ (este efecto se comentará ampliamente más adelante al hablar de la viscosidad sanguínea).

3. 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.

En 1957, Jaykka²²⁵ 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, Avery²² 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 alvéolos³¹¹.

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 estasis en la vena umbilical y se desprende la placenta^{311 314}. 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 éstos³¹¹.

3.1 MODIFICACIONES CARDIOPULMONARES .-

Los estudios sugieren que en el caso de la ligadura tardía del cordón umbilical, tanto los recién nacidos a término como los pretérmino, tienen mejor vasodilatación pulmonar y sistémica, mayor flujo sanguíneo al cerebro e intestino³⁹⁵. En los neonatos pretérmino, se ha documentado además un incremento en la presión arterial²¹⁵ y mejor adaptación cardiopulmonar con menor necesidad de oxígeno y días de ventilación mecánica³¹¹.

Algunos autores como Hohmann²⁰⁶ no encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los parámetros cardiovasculares entre ambos grupos, aunque sí evidenció un mayor volumen eritrocitario y una mayor capacidad de oxigenación al sexto día de vida en los recién nacidos sometidos a ligadura tardía.

Estudios piloto y experiencias en animales, mostraron la existencia de efectos cardiovasculares atribuibles al tipo de ligadura de cordón umbilical realizado^{17 18 90 207 395 413 414 519 558}. 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.

A) Presión arterial:

Los neonatos sometidos a ligadura tardía tuvieron, en las primeras cuatro horas de vida, valores de presión arterial sistólica significativamente mayores que los del grupo de ligadura precoz^{215 256 357}. Sin embargo, para Nelle³⁴⁰ 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.

B) 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 hora²⁷².

Por otra parte, Nelle³⁴⁰ sugiere que el método de Leboyer se asocia a un incremento transitorio de las resistencias pulmonares y sistémicas.

C) Presión venosa central y portal:

Lind²⁷² no encontró diferencias significativas entre los valores de la presión venosa portal de neonatos sometidos a la ligadura precoz y a la ligadura tardía.

D) Presión en las cavidades auriculares:

Las presiones en estas cavidades, durante la primera hora de vida, son significativamente mayores en los neonatos de ligadura tardía¹³.

E) 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 Leboyer³⁴⁰.

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, Yao⁵⁴⁸ sugiere que la ligadura tardía tiene efectos desfavorables en el trabajo ventricular izquierdo de los neonatos.

Por su parte, Kunzel²⁵⁶ no encontró diferencias estadísticamente significativas en la función cardiaca de los niños sometidos a ligadura tardía frente a los sometidos a ligadura precoz.

F) 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, en la sexta hora⁸⁰ y a las 24 horas del nacimiento⁴⁹⁴.

3.2. MODIFICACIONES A NIVEL RESPIRATORIO .-

I. Frecuencia respiratoria:

Durante las tres primeras horas de vida, la frecuencia respiratoria es significativamente más elevada en los recién nacidos con ligadura tardía^{357 550}.

II. 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 vida³⁵⁸.

3.3. 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 tardía³⁵⁴. Es posible que la función renal se efectúe en mejores condiciones en los casos de ligadura tardía, dado el aumento de flujo sanguíneo fetal^{206 256 354}.

Cort y Pribylova³⁹¹ no encontraron diferencias significativas comparando el volumen urinario del primer día en los neonatos de ambos grupos.

3.4. 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 celíaco 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 estudio³⁴¹. En un estudio desarrollado por Hofmeyr en 1988, se demostró una mayor incidencia de hemorragias peri e intraventriculares en los recién nacidos sometidos a ligadura precoz²⁰⁴.

4. LIGADURA PRECOZ DEL CORDÓN UMBILICAL .-

“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”, fue pronunciado por Erasmus Darwin hace más de 200 años.

En los años 70, se realizaron estudios en primates^{333 535}, a los cuales se les realizaba la ligadura precoz, produciendo una asfixia neonatal. Dos estudios posteriores²⁷⁴ 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, 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 posparto.

El Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos (ACOG) recomienda en el año 1995 en su boletín educacional número 216, al igual que la Sociedad de Obstetras y Ginecólogos de Canadá (SOGC) en su estamento número 89 del año 2000, la ligadura precoz del cordón umbilical a pesar de no existir suficiente evidencia científica a favor⁵³⁵ 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, que es la única fuente de oxígeno que tiene hasta que sus pulmones comiencen a funcionar. Esta sangre oxigenada permanece en la placenta, mientras que el neonato necesitará desviar flujo sanguíneo de otros órganos hasta los pulmones.

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, siempre lleva consigo algún grado de asfíxia y pérdida de volumen sanguíneo que se estima puede oscilar entre el 25-40%³¹⁴.

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 aumento de las tasas de anemia en la infancia, aunque debemos anotar que ninguno de los estudios buscó secuelas a largo plazo³¹¹.

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 madre¹³⁵, la isoimmunización Rh. 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 retardado⁸⁷ o aquellos cuyas madres presentan una diabetes gestacional. Georgieff y cols.¹⁶², 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 Usher^{435 436} 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 cols²⁶, 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.²⁶⁸ 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.⁴⁰² 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.¹⁷⁸ 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 .-

El procedimiento natural de ligadura del cordón umbilical ha sido la ligadura tardía, es ésta la conducta que se puede observar tanto en el mundo animal, como en las culturas primitivas que aún subsisten.

Desde un punto de vista histórico, el clampaje del cordón umbilical se debería hacer un tiempo después tras el nacimiento del feto, y tras la expulsión de la placenta²⁵⁶.

El pinzamiento precoz del cordón umbilical es una práctica que 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, la creencia de que este tipo de ligadura causa policitemia está tan extendida, que se acepta sin claras referencias bibliográficas ni evidencias científicas^{353 402 505}.

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”, con lo que se 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 Dinamarca³¹⁸ demostraron que los niveles de ferritina eran más elevados en un hospital donde se realizaba la LT que en otros hospitales de 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 ferritina¹⁷⁵.

En los recién nacidos pretérmino, se ha demostrado niveles más altos de hemoglobina, de hematocrito, de presión sanguínea²⁵⁶ y menor necesidad de transfusión sanguínea en las primeras seis semanas de vida. Autores como Rabe y cols realizaron un estudio aleatorizado³⁹⁶ 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.³⁰⁴, 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.²¹⁵ 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 clínicamente⁵⁰⁵.

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, dicha diferencia ha sido verificada desde los primeros minutos de vida y también al quinto día de vida^{206 206 271 302 354 488 503}.

Por otra parte, Erkkola¹³⁵ 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^{256 271 302 354 503}.

En general, no se encontraron diferencias significativas entre los volúmenes plasmáticos de neonatos con y sin ligadura precoz³⁵⁴. Sin embargo, McCue³⁰² encontró volúmenes plasmáticos mayores a los treinta minutos de vida en los casos en los que se practicó ligadura tardía. Usher⁵⁰³ 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^{256 271 302 354 355 459 503}.

Estudios de autores como Gupta¹⁸⁴ la aconsejan especialmente en los hijos de mujeres anémicas, ya que se produciría un aumento importante de las concentraciones de hemoglobina y de hierro en la infancia¹³⁴, que han quedado demostradas a los 2 y 3 meses tras el nacimiento, y se demostró que las diferencias en las concentraciones de hemoglobina eran mucho mayores en los hijos de las mujeres anémicas⁵⁰⁵.

Van Rheenen⁵⁰⁶ en un estudio realizado junto con sus colaboradores en 2006, afirma que los recién nacidos de bajo peso se beneficiarían de ser sometidos a ligadura tardía del cordón umbilical, dado que se disminuye mucho la incidencia de anemia, así como la necesidad de transfusión, lo que es especialmente importante en los países en vías de desarrollo, ya que supone un riesgo de morbilidad y mortalidad mucho mayor que una supuesta hiperbilirrubinemia y policitemia.

El método de Leboyer requiere que el recién nacido sea depositado sobre el vientre materno y el cordón sea ligado cuando deja de latir. Nelle³⁴⁰ 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^{93 129 206 256 260 430 535}.

Ibrahim²¹⁵ 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.

Papagno³⁶⁹ 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.

McDonnell³⁰⁴ comparó estos parámetros en niños pretérminos nacidos vía vaginal o por cesárea y encontró una tendencia al alza en los valores del hematocrito de los recién nacidos a los que se les realizó una ligadura tardía pero sin significación estadística ni 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 que ésta no conlleva a predecir diferencias en el hematocrito de los recién nacidos.

5.1.1.3. Reserva de hierro:

Geethanath¹⁵⁹ 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.

No obstante existen estudios que reconocen no encontrar diferencias en las concentraciones de hierro entre ambos tipos de ligadura¹⁵⁹

5.1.1.4. Necesidades de transfusión sanguínea y de albúmina:

Ibrahim²¹⁵ 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 Grajeda¹⁷⁵, 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 transfusiones en las primeras seis semanas de vida, según algunos autores³⁹⁶ retrasar la ligadura del cordón umbilical 45 segundos es factible y seguro en recién nacidos de menos de 33 semanas, disminuyendo la necesidad de transfusión en las primeras 36 semanas de vida.

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^{341 525}. En los recién nacidos pretérmino, se ha documentado un incremento en la presión arterial y mejor adaptación cardiopulmonar con menor necesidad de oxígeno y días de ventilación mecánica³¹¹. En los neonatos a término, mejor llenado capilar³⁸², temperatura periférica más alta³⁵⁶ y mayor gasto urinario³⁵⁴, 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 materna³⁷⁶, la cual fue más prolongada en los recién nacidos a los que se les había ligado tardíamente el cordón umbilical.

Por otra parte, algunos autores²⁵⁶ han afirmado que la transfusión placentaria en un feto hipóxico aumentaría el aporte de oxígeno a los tejidos fetales. Y Hohmann²⁰⁶ demostró que en prematuros, la ligadura tardía disminuye la incidencia y la severidad del distrés respiratorio, sin olvidar que en casos de hipoxia intraútero, tendrá lugar una redistribución sanguínea antes del nacimiento, y las medidas de resucitación se tendrán que poner en marcha de inmediato.

En cuanto a los fetos prematuros, diversos autores han descrito múltiples beneficios tanto clínicos a corto plazo³¹² como económicos a corto y a largo plazo derivados de la ligadura tardía como puede ser la disminución de la incidencia de la necesidad de transfusión descrita por Rabe³⁹⁶ en el año 2000, o bien la disminución de la necesidad de ventilación mecánica y de oxígeno suplementario descrito por Kinmond en 1993, del que se derivarían los consecuentes beneficios económicos²⁴⁶.

Un ensayo clínico randomizado de 2006 demuestra otros efectos beneficiosos de la ligadura tardía en los recién nacidos prematuros es la disminución de la incidencia de la hemorragia intraventricular y de la sepsis en estos niños³¹⁵.

Una revisión Cochrane de 2004³⁹⁵ concluye que retrasar la ligadura del cordón umbilical entre 30 y 120 segundos en recién nacidos prematuros se ha asociado con una menor necesidad de transfusión sanguínea y con una menor incidencia de hemorragia intraventricular, no encontrando diferencias significativas en el resto de los parámetros estudiados.

5.2. EFECTOS ADVERSOS DE LA LIGADURA TARDÍA .-

Diversos autores³⁶⁹, como ha quedado expuesto anteriormente, han demostrado la seguridad de la ligadura tardía del cordón umbilical, no obstante, a continuación citaremos estudios relacionados con los efectos adversos descritos clásicamente.

5.2.1. HIPERVISCOSIDAD .-

El aumento de la viscosidad sanguínea acompaña a la policitemia frecuentemente, 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 por una parte mayor vasodilatación pulmonar y sistémica, y por otra factores esenciales para la adaptación neonatal a la vida extrauterina³¹¹.

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”²⁶².

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).

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

Existen distintos tipos de fluidos, atendiendo 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^{107 493}. 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 intraeritrocitaria.

Siguiendo las directrices del Comité Internacional para la Estandarización Hematológica¹, 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 viscosidad²⁶². Este hecho hace que la valoración de la viscosidad plasmática se realice de forma más fiable con el viscosímetro de tipo capilar¹¹⁵.

5.2.1.2. Viscosidad y la fracción protéica:

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 adulto²⁷⁶.

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 parto²⁷⁶. 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 neonato⁴¹⁶. 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 desaparecen⁴¹⁸, 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, lo que podría deberse a la mayor viscosidad plasmática existente en sujetos adultos, debido a 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 mujeres⁵³.

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 como:

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

Aunque la anormalidad 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 sanguínea²³⁶. 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%^{439 538}.

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 sanguínea⁴³⁹.

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).

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. 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 celular¹⁴⁸.

El hematocrito de los diversos compartimentos de la unidad feto placentaria (vena placentaria, arteria y vena umbilical) no muestra diferencias compartimentales sustanciales, siendo más elevado que el observado en sangre materna¹⁴⁸. El recién nacido, pese a su mayor valor de hematocrito y volumen corpuscular, muestra una viscosidad sanguínea similar a la materna⁴⁰⁹, 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 feto¹⁴⁸. 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 materna⁴⁰⁹, 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 feto placentario.

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 sanguínea¹²³. La viscosidad sanguínea aparente y corregida a valores de hematocrito del 45% aumenta durante el parto para normalizarse después del alumbramiento⁷⁰.

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 alumbramiento⁷⁰. Al igual que en otros momentos de la gestación, la relación entre viscosidad y flujo ha sido puesta de manifiesto mediante ecografía con doppler⁴⁷³.

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, lo cual no siempre ha quedado demostrado en los diferentes estudios. 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 extrauterina³¹¹.

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 sanguínea¹³ y vasoconstricción junto con la policitemia³¹⁰. 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 se puede hacer mediante la determinación del valor del hematocrito en sangre periférica como observó Shohat⁴⁵⁵, 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 Usher⁴³⁵. 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 sintomático²⁶.

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 bilirrubina⁴³⁴.

En la revisión sistemática realizada por Mercer y cols.³¹¹, 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^{286 347}, aunque estudios recientes han sugerido que la bilirrubina podría producir efectos beneficiosos a nivel celular, por tener propiedades antioxidantes^{120 303}. La ictericia neonatal es un proceso tan frecuente que más del 50% de los recién nacidos la desarrollan²⁶³.

El resurgimiento de la alimentación con leche materna ha aumentado la incidencia de ictericia²⁸⁷. 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. 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 causa²⁴⁸.

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 produce 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^{63 530}. 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. 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^{286 347 527}. Estos valores pueden ser sustancialmente inferiores en recién nacidos prematuros y/o enfermos^{286 347 527}.

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 vida²⁰⁰. 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 fisiológicos²⁰⁰. 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^{263 200}.

Los niveles séricos de bilirrubina generalmente no exceden los 15 mg/dl y frecuentemente, vuelven a niveles normales de forma espontánea. Por razones aún no bien conocidas, los recién nacidos asiáticos tienen un pico más alto de niveles de bilirrubina y presentan una ictericia más prolongada^{263 530}.

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 biberón²⁸⁷.

Por otro lado, también se ha demostrado en varios estudios que la ictericia por lactancia materna puede prolongarse semanas o meses^{248 448 471}.

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, comprometiendo la reabsorción del líquido pulmonar fetal y aumentando del riesgo de taquipnea transitoria del recién nacido.

Sin embargo, los estudios clínicos controlados realizados en las últimas dos décadas, no demuestran mayor incidencia de esta afección en los niños en los que 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 tratamiento²⁷¹.

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, Moss³²⁷ observó menores incidencia de SDRI y letalidad en los recién nacidos de ligadura tardía en relación a los de ligadura precoz.

Bound⁵⁸ refiriéndose a la letalidad por SDRI, corroboró el hallazgo. Contrariamente, Yao⁵⁴⁹ encontró una menor letalidad (para el SDRI) en los recién nacidos con ligadura precoz. Finalmente, en otros estudios no se encontraron diferencias

150

En el caso de que el nacimiento se produzca mediante cesárea, para Kunzel²⁵⁶ 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^{206 256}.

6. RADICALES LIBRES.

6.1. Recuerdo histórico.

Si nos remontamos a la historia en el conocimiento del oxígeno hallamos a su descubridor, el teólogo inglés J. Priestley, que vivió en el siglo XIII y lo denominó “aire desflogisticado”, que lo descubrió al calentar con los rayos de una lente convergente el dióxido de mercurio. A finales del mismo siglo Lavoisier lo denominó con el término que conocemos actualmente: oxígeno, demostrando además que formaba parte de la mezcla de aire que respiramos. Posteriormente aparecieron trabajos en los que se comenzó a identificar su potencial tóxico, y Bert en su tratado de 1878 “La Pression Barometrique” hizo los primeros estudios experimentales que demostraban el *envenenamiento por oxígeno*.

Fueron muchos los autores que se dedicaron a este campo en el siglo pasado. El primer estudio sobre antioxidantes fue llevado a cabo por Moreau y Dufraise. La industria alimenticia también contribuyó a este estudio descubriendo y sintetizando la vitamina E o alfa tocoferol. Szent-Gyorgy descubrió la vitamina C, así como los efectos antioxidantes del ácido úrico, del glutatión y otras moléculas. Más tarde se descubrieron los mecanismos antioxidantes enzimáticos más reconocidos: catalasa³, superóxido dismutasa¹⁵³.

Existe actualmente una Sociedad Internacional para el estudio de los radicales libres y del oxígeno formada por sociedades filiales (una en cada continente) y grupos de trabajo dentro de las mismas cuya publicación periódica es la revista *Free Radical biology & Medicine*.

Así pues, estamos frente a un elemento que a la vez es fuente de vida y causa de muerte. Hasta que no apareció el oxígeno en la biosfera terrestre, no pudieron darse formas de vida más evolucionadas que las elementales de las bacterias y algas cianofíceas, que previamente se habían formado espontáneamente en una atmósfera reductora compuesta primordialmente por metano y anhídrido de carbono. Estas formas de vida generaron un ambiente de oxígeno que se fue enriqueciendo progresivamente propiciando la gran variedad de formas de vida que conocemos actualmente.

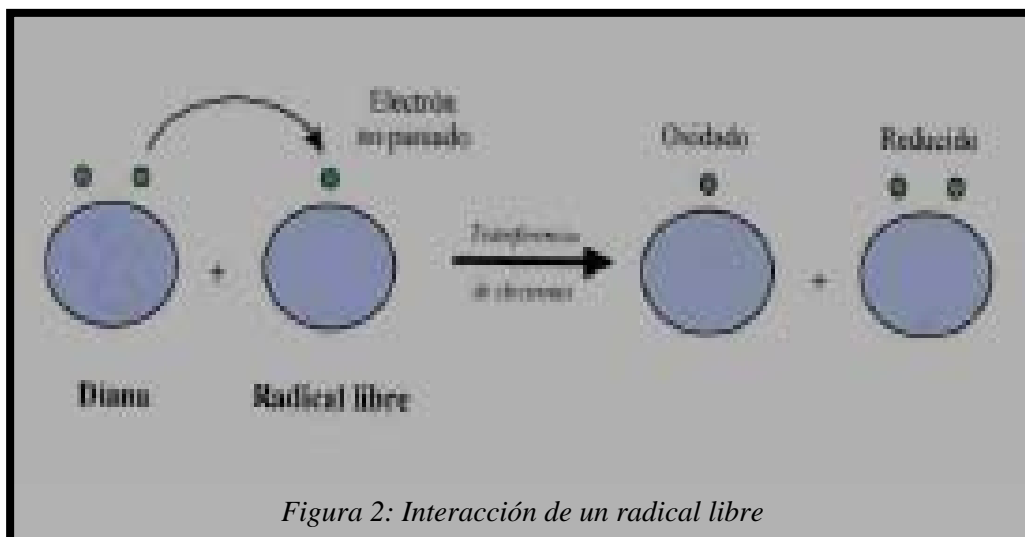
En los seres eucariontes, el oxígeno (O₂) forma parte de una de las vías más importantes en la generación de la energía, ya que de su metabolismo depende la

formación de las moléculas de ATP, tan necesarias para la generación y el control de la energía.

La fisiología de los órganos y tejidos de los seres vivos dependen de un equilibrio entre múltiples mecanismos biofísicos y bioquímicos, factores y agentes externos que, regulándose entre sí, mantienen la homeostasis celular dentro de un rango compatible no solo con la vida, sino también con la salud celular y del organismo en su conjunto.

Las causas de lesión y muerte celular están incluidas dentro de un amplio espectro de posibilidades y varían desde la violencia externa visible, como un traumatismo, hasta causas profundamente endógenas, como un defecto genético de una enzima vital que altere las funciones metabólicas normales.

Los mecanismos moleculares responsables de la lesión celular son complejos y quizá no exista una vía común hacia la muerte celular. Aunque no siempre es posible determinar el punto bioquímico específico donde actúa un agente lesivo, hay cuatro sistemas celulares especialmente vulnerables: la membrana celular, la respiración aerobia, la síntesis de proteínas tanto enzimáticas como estructurales, y el aparato génico de la célula.



Las consecuencias de la lesión celular dependen no solo del tipo y la agresividad del estímulo, sino también del estado y la adaptabilidad de la célula.

Radical	Nombre	Moléculas diana
$O_2^{\cdot-}$	Superóxido	Enzimas
H_2O_2	Peróxido de hidrógeno	Ácidos grasos insaturados
HO^{\cdot}	Hidroxilo	Todas las moléculas
R^{\cdot}	R-ilo	Ácidos grasos insaturados
RO^{\cdot}	R-oxilo	Ácidos grasos insaturados
ROO^{\cdot}	R-dioxilo (peroxilo)	Ácidos grasos insaturados
$ROOH$	Hidroperóxido	Ácidos grasos insaturados
1O_2	Oxígeno singlete	Distintas moléculas
NO^{\cdot}	Nitroxilo	Distintas moléculas
CCl_3^{\cdot}	Triclorometilo	Oxígeno

Tabla 1: Ejemplo de radicales liobres y especies reactivas del oxígeno

Estudios recientes demuestran que un metabolismo anormal del oxígeno puede tener un protagonismo excepcional en los mecanismos de lesión tisular ante procesos inflamatorios e isquémicos. La toxicidad del oxígeno se explica por la producción de los denominados radicales libres (RL) del oxígeno, altamente reactivos y, por tanto, lesivos para la integridad celular. Estos radicales se forman de forma habitual, reduciéndose a agua por mecanismos enzimáticos desarrollados a lo largo de la evolución. En determinadas circunstancias patológicas, en las que un tejido u organismo está sometido a daño, ya sean situaciones de hipoxia mantenida, isquemia reperusión, irradiaciones, drogas, etc., los mecanismos protectores encargados de neutralizar los RL se desbordan provocando lesión ya sea transitoria o definitiva de las células afectadas, apareciendo los efectos tóxicos.

No solo el oxígeno puede generar RL, existen moléculas orgánicas e inorgánicas que también lo hacen. Además, en condiciones normales se generan RL en muchas cadenas metabólicas, como síntesis de prostaglandinas y leucotrienos, metabolismo de fármacos, etc.

6.2. Definición de radical libre.

Un radical libre es cualquier molécula o átomo que tiene en su última capa uno o más electrones desapareados, es decir, un número impar. Cualquier átomo que no tenga en su capa más externa un número de electrones similar al del gas noble más próximo en la tabla periódica tiende a ganar o perder electrones de dicho orbital para adquirir así una conformación estable. Cuando por cualquier mecanismo se añade un electrón extra a la última capa de un átomo constitutivo de una molécula se forma un *radical libre (RL)*, siendo su representación genérica R^{\cdot} . Por su característica de número impar de

electrones en su capa más externa, son extraordinariamente reactivos, interaccionando con un gran número de moléculas orgánicas e interfiriendo con su estructura y su metabolismo¹⁸⁹. Por ello presentan una vida media muy corta, lo que a su vez hace difícil su detección, identificación y cuantificación. En la tabla 1 se muestran algunos de estos radicales libres y las moléculas sobre las que actúan predominantemente.

Los radicales libres más interesantes son los tres siguientes: anión superóxido: $O_2^{\cdot-}$, peróxido de hidrógeno: H_2O_2 y radical hidroxilo: HO^{\cdot} . Estos radicales son derivados del oxígeno por un proceso de reducción monovalente catalizado por iones de transición (Fe^{3+} , Cu^{2+}). Todos contribuyen a lo que se denomina normalmente como “toxicidad del oxígeno”: los radicales oxigénicos $O_2^{\cdot-}$ y OH^{\cdot} debido a su electrón desapareado, y el peróxido de hidrógeno, a pesar de no ser un radical propiamente dicho, porque produce radicales OH^{\cdot} en presencia de $O_2^{\cdot-}$ y Fe^{3+} por la reacción de Haber-Weiss⁹⁷.

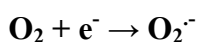
Estos tres radicales son altamente reactivos con un gran número de moléculas orgánicas (proteínas, ácidos nucleicos y ácidos grasos poliinsaturados de fosfolípidos de membranas). Su producción elevada y no controlada está implicada en la destrucción celular y en muchos procesos morbosos.

Sin embargo, también tienen una acción protectora, formando parte del metabolismo normal, particularmente en la respiración mitocondrial, detoxificación microsomal (inducción enzimática de muchos fármacos como los barbitúricos, etc.), fagocitosis (a través de la activación de la mieloperoxidasas fundamentalmente en los leucocitos polimorfos nucleares) e inflamación, síntesis de prostaglandinas y leucotrienos, etc. (Halliwell B, Chirico S. 1993).

6.3. Tipos de radicales libres.

6.3.1. Radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$).

Se produce como consecuencia de una reducción monovalente o mono electrónica del oxígeno molecular:



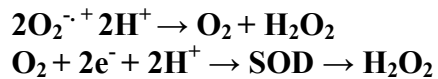
Aunque de trata de una especie menos reactiva que otros radicales, participa en numerosos procesos citotóxicos a través de un mecanismo indirecto, es decir, sirviendo como fuente de producción de H_2O_2 u otros radicales libres y como reductor de iones metálicos de transición.¹⁰²

El $O_2^{\cdot-}$ se produce en compartimentos celulares como el citosol, los peroxisomas y sobre todo en las mitocondrias, las reacciones enzimáticas en las que se ha demostrado su presencia son numerosas y de naturaleza variada. Puede resultar como producto de una reacción, como es el caso de las reacciones catalizadas por la xantino oxidasa y aldehído oxidasa, o bien actuar como intermediario enzimático en los mecanismos de transferencia electrónica como es el caso de la galactosa oxidasa y citocromo P-450 oxidasa. Otros de los mecanismos de producción está relacionado con la autoxidación de hemoproteínas, leucoflavinas, hidroquinonas, catecolaminas,

biotransformación de antibióticos, grupos tiólicos, el impacto de las radiaciones ionizantes, o con el proceso de la inflamación articular⁹⁶.

6.3.2. *Peróxido de hidrógeno (H₂O₂).*

Es un metabolito del oxígeno intracelular cuya formación se basa en la dismutación del anión superóxido, catalizada por la superóxido dismutasa (SOD), o directamente, por la reducción bivalente del oxígeno:



Las fuentes celulares de peróxido de hidrógeno son:

- Las mitocondrias, que contribuyen en un 15% a la producción total de ésta molécula en el hepatocito.
- Los peroxisomas con un 35%.
- Y el citosol con un 5%. Su producción puede aumentar cuando se incrementa la PO₂ en el medio, lo que implica al peróxido de hidrógeno en el efecto letal inducido en la hiperoxia⁶⁰.

Concentraciones pequeñas de H₂O₂ producen lisis eritrocitaria. Así mismo pueden producir oxidación de compuestos sulfidrilos, y de residuos de metionina de diversas proteínas así como inducir la peroxidación de los ácidos grasos en las membranas celulares. No obstante, es necesario puntualizar que dicha peroxidación se produce a velocidades razonables solo cuando la concentración de peróxido excede a la permitida “in vivo” o es por lo menos cinco órdenes de magnitud superior⁹⁸. Sin embargo se ha señalado en diversos estudios de citotoxicidad que su acción se ejerce no como consecuencia de su interacción o ataque directo sobre los componentes celulares sino mas bien a través de especies de mayor reactividad producidas a partir de H₂O₂ y otro agente reductor como el O₂^{·-} o un ión metálico como el Fe²⁺⁴³⁸.

6.3.3. *Radical hidroxilo (OH[·]).*

El radical hidroxilo es la forma protonada resultante de la reducción monovalente del oxígeno molecular, siendo un intermediario en los medios biológicos acuosos. Es el más reactivo entre las especies oxigénicas conocidas y sus efectos biológicos han hecho del mismo el centro de interés del estudio sobre la toxicidad del oxígeno. Su reactividad es alta y prácticamente indiscriminada. Es uno de los principales iniciadores de la peroxidación lipídica⁵⁰².

Por otra parte se sabe que la capacidad del H₂O₂ para oxidar compuestos orgánicos está notablemente incrementada ante la presencia de sales metálicas. La mezcla de una sal metálica y H₂O₂ se denominó reactivo de Fenton y ha sido muy utilizada como agente hidroxilante.

Cualquier reacción o sistema productor de O₂^{·-} puede dar lugar igualmente a cantidades de H₂O₂ debido a la rápida dismutación del radical superóxido. En aquellas

situaciones en las que se acumule H_2O_2 , es posible esperar la reacción entre el $O_2^{\cdot-}$ y el H_2O_2 mediante la reacción de Haber-Weiss para producir el radical hidroxilo.

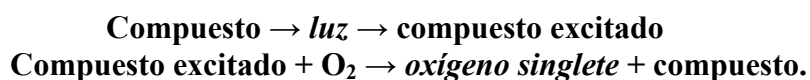
Las posibles rutas o mecanismos de formación del radical hidroxilo “in vivo” podrían ser:

- a) el efecto de las radiaciones sobre el agua;
- b) la fotólisis del peróxido de hidrógeno;
- c) por la reacción de Fenton;
- d) reducción del ozono por transferencia electrónica y
- e) interacción radical-peróxidos orgánicos.

De ellos el mecanismo más fácilmente aceptable “in vivo” parece ser la reacción de Fenton.

6.3.4. Oxígeno singlete (1O_2).

Es producido por absorción de energía por un átomo de oxígeno, lo que causa una nueva disposición de los electrones como consecuencia del cambio de orientación de uno de sus espines. La vía más importante de producción en sistemas biológicos se da cuando ciertos compuestos son iluminados en presencia de oxígeno. Estos compuestos absorben la luz, adquieren un estado de alta excitación electrónica, y transfieren ese exceso de energía al oxígeno con lo que se convierte en oxígeno singlete¹⁸⁹.



No se trata de un radical en sí, pero junto al radical hidroxilo, es considerada como una de las principales especies oxigénicas capaces de reaccionar directamente con macromoléculas como puedan ser ácidos grasos^{189 453}.

Entre estos agentes fotosensibles nos encontramos colorantes (p.ej. eosina), cierto tipo de drogas (p.ej. tetraciclinas) y una serie de sustancias encontradas en el cuerpo humano, como pueden ser porfirinas, riboflavinas y bilirrubina¹⁸⁹. Así, por ejemplo, en pacientes con cierto tipo de porfiria, se produce acumulación de porfirinas que pueden provocar daño en la piel, al interactuar la luz solar con ellas dando lugar a la formación de oxígeno singlete²⁵¹.

* Aunque El H_2O_2 no es estrictamente un radical libre a altas concentraciones posee cierta toxicidad.
 ** Ácidos grasos poliinsaturados. R= habitualmente, un radical lipídico.

Radical	Nombre	Vida media	Blanco biológico típico
$O_2^{\cdot-}$	Superóxido	10^{-5} s	Enzimas
H_2O_2	Peróxido de hidrógeno*	Estable	PUFA**
HO \cdot	Radical hidroxil	10^{-9} s	Todas las moléculas
R \cdot	R-ilo	10^{-8} s	Oxígeno
RO \cdot	R-oxilo (alcoxilo)	10^{-6} s	PUFA
ROO $_2^{\cdot}$	R-dioxilo (peroxilo)	7 s	PUFA
ROOH \cdot	Hidroperóxido		PUFA
1O_2	Singlete de oxígeno	10^{-6} s	H $_2$ O
HOCL	Ácido hipocloroso	Estable	Varios
NO \cdot	Radical de óxido nítrico	-1s	Varios

Tabla 2:
Vida media y blanco biológico típico de los radicales libres y especies reactivas del oxígeno

A pesar de la capacidad del oxígeno singlete para reaccionar con ácidos grasos, no se puede considerar como un inductor de la peroxidación lipídica como pueda serlo el OH, puesto que reacciona directamente con el ácido graso para dar peróxidos, sin que exista sustracción de hidrógeno, y no dándose por lo tanto las reacciones en cadena¹⁸⁹
424 .

Otra vía de producción de oxígeno singlete es la reacción de peróxidos entre sí, aunque es una vía menor, puesto que la probabilidad de colisión entre estos peróxidos es baja.

Otra vía de producción es la observada por Kanofsky y Sima²³⁴, en la que la interacción del ozono con ciertas moléculas biológicas produce oxígeno singlete.

6.4. Balance y estrés oxidativo .

Como se ha comentado previamente, los radicales libres se están formando continuamente en el organismo, que presenta un adecuado sistema de protección para eliminar y/o reparar el daño producido por estos compuestos.

Sin embargo estas defensas antioxidantes no son efectivas al 100%, debido al hecho de que algunos de estos radicales libres, están implicados en numerosos procesos metabólicos y cumpliendo por tanto una función biológica.

Así, algunos enzimas utilizan radicales libres en sus centros activos, durante los procesos de catálisis, como por ejemplo en la ribonucleótido reductasa⁴⁷⁴, pueden ser generados por fagocitos como parte de su papel bactericida^{24 25}, o encontrarse involucrados en la síntesis de leucotrienos y prostaglandinas, etc⁴⁵³.

Por lo tanto es necesario que exista un tenue balance entre las propiedades fisiológicas de los radicales libres y sus propiedades dañinas¹⁸⁹.

Son los sistemas antioxidantes los encargados de mantener el equilibrio adecuado entre estas funciones, dando lugar a lo que se conoce como “balance oxidativo”. Cuando este balance, bien por exceso de producción de radicales libres o bien por disminución de las defensas antioxidantes, se desequilibra hacia las propiedades dañinas de los radicales libres se produce el “estrés oxidativo”, lo cual puede repercutir en un daño en el tejido directo o indirecto, siendo la importancia del daño dependiente de la duración y de la naturaleza del sistema estresado¹⁸⁹.

El estrés oxidativo, o más bien el exceso de RL, está involucrado en mayor o menor grado en múltiples enfermedades, como veremos más adelante.

6.5. Mecanismos celulares de producción de radicales libres .

Con la excepción de algunas circunstancias poco usuales, como la acción de las radiaciones ionizantes, los radicales libres son producidos generalmente en la célula a través de reacciones de transferencia de electrones. Esta puede ser mediada con o sin participación enzimática, pero sí a través de iones metálicos de transición.

La producción de radicales libres en células animales puede ser tanto por accidente como deliberada en las células en ciertas situaciones especiales en las que interesa inducir un daño. Algunos enzimas utilizan un radical libre en su centro activo en el proceso de catálisis, como por ejemplo hace la ribonucleótido reductasa. En estos casos, el radical no es realmente “libre” y su reactividad está dirigida y controlada. Los fagocitos activados también generan

Fuente	Mecanismo
Transporte mitocondrial de electrones	Pérdida de superóxido debido a la reducción ineficiente de oxígeno
Iones metálicos de transición	Cu^{++} y Fe^{++} : radicales hidroxil
Inflamación	RL liberados por fagocitos activados
Enzimas v.g.: xantin-oxidasa	Superóxido tras reperfusión por isquemia
Drogas v.g.: paraquat, paracetamol	Intermediarios metabólicos
Humo de cigarrillos	Fase gaseosa rica en radicales libres
Radiación	Rayos X, luz ultravioleta

Tabla 3: Fuentes de estrés oxidativo en fisiopatología humana.

deliberadamente radical superóxido dentro de su función bactericida⁴⁴¹. En este caso, los radicales libres son producidos en la superficie de la membrana plasmática que engloba a la bacteria y, por tanto, también sufren inevitablemente algún daño.

6.5.1. Cadena respiratoria mitocondrial.

En condiciones fisiológicas un pequeño porcentaje de electrones que circulan a través de la cadena respiratoria, escapa de ésta siendo responsable de la formación del radical superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$), y posteriormente a través de la acción catalítica de la catalasa, del peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Dado que la formación del radical $\text{O}_2^{\cdot-}$ es dependiente del flujo de la cadena de transporte de electrones, cualquier situación que aumente el consumo de oxígeno, aumentará proporcionalmente la generación del radical superóxido.

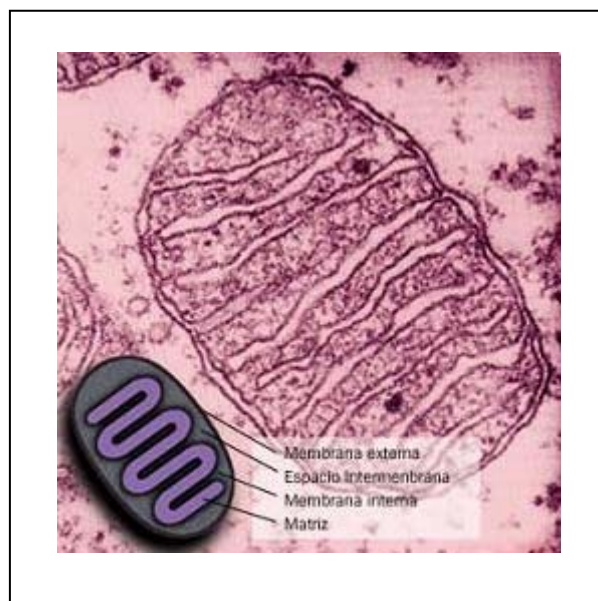


Fig. 3: Imagen de mitocondria con microscopía

Entre estas situaciones hay que destacar la actividad física. En general, la producción de estos radicales libres es proporcional a la tasa metabólica, lo que nos permite predecir situaciones en las que este proceso tenga importancia.

Dado el papel tan importante de la mitocondria en la producción de radicales libres, profundizaremos un poco más en su estructura y función.

La microscopía electrónica (Figura 3) muestra que las mitocondrias están rodeadas por una doble membrana que envuelve la matriz mitocondrial. La membrana externa está en contacto con el citoplasma y constituye un saco cerrado que, a su vez, contiene la membrana interna, caracterizada por invaginaciones denominadas crestas, que penetran en la matriz mitocondrial. Entre la membrana interna y la externa queda definido un espacio que se continúa dentro de las crestas, denominado espacio intermembranoso o espacio intercrestal^{463 464}.

En general, los tejidos más activos muestran mitocondrias con un número mayor de crestas. La ventaja fundamental de éstas reside en el notable aumento de superficie. Se ha calculado que el hígado y el corazón de rata contienen una superficie total de membrana interna mitocondrial de alrededor de 12 y 20 m², respectivamente.

En la membrana mitocondrial interna, se localiza la cadena respiratoria que se caracteriza por la cohesión física con la cual sus componentes se mantienen unidos entre sí e integrados a la membrana. El componente hidrofóbico hace que la membrana interna sea impermeable a la mayoría de las moléculas polares, como protones y aniones hidroxilo.

La denominación de cadena respiratoria es descriptiva, ya que el proceso catalizado está constituido por una secuencia acoplada de reacciones que dan como resultado la respiración o consumo de oxígeno. Este sistema multienzimático es conocido también como cadena de transporte de electrones, una denominación que pone énfasis en que las reducciones y oxidaciones son fenómenos caracterizados por la ganancia o pérdida de electrones.

La superficie interior de la membrana interna se halla recubierta por unas partículas esféricas de alrededor de 9 nm de diámetro, unidas por un pedúnculo a la membrana. Estas partículas, denominadas partículas elementales o esferas de la membrana interna, están constituidas por la enzima F1-ATPasa responsable de la síntesis de ATP, proceso acoplado a la cadena respiratoria. El proceso simultáneo de oxidación y fosforilación de ADP es denominado fosforilación oxidativa⁴⁶³.

6.5.1. 1. Distribución de enzimas en las membranas mitocondriales.

La membrana externa contiene enzimas características, como la aminooxidasa, las tioquinasas de los ácidos grasos, y una NADH-citocromo c-reductasa.

El espacio intermembrana contiene, entre otras enzimas, la adenilato-quinasa y la matriz mitocondrial contiene las enzimas solubles del ciclo de los ácidos tricarbónicos, la glutamato dehidrogenasa y las enzimas de oxidación de ácidos grasos. La tabla 4 se muestra la distribución de enzimas en la mitocondria⁴⁶⁴.

Es importante destacar que en la mitocondria se encuentra el 10-15% del glutatión total celular. Dicha molécula es un tiol de bajo peso molecular (tripéptido), que ayuda a mantener un medio reductor en la organela⁵⁰¹.

6.5.1.2. *Metabolismo oxidativo mitocondrial.*

La participación de las mitocondrias en el metabolismo aeróbico comienza con la descarboxilación oxidativa de compuestos como el piruvato (originado durante la glicólisis de azúcares en el citosol) a acetil-CoA por el complejo enzimático piruvato dehidrogenasa.

La subsiguiente oxidación de acetil-CoA es mediada por dos caminos metabólicos relacionados. El primero, conocido como ciclo de los ácidos tricarboxílicos, oxida acetil-CoA a dióxido de carbono y, en el proceso, reduce NAD⁺ a NADH. El segundo camino involucra una serie de reducciones y oxidaciones cuyo resultado neto es la reoxidación del NADH a NAD⁺ y la reducción del oxígeno a agua. Este proceso es catalizado por la cadena respiratoria, y es aquí donde la energía de oxidación de sustratos es utilizada para la síntesis de ATP⁵⁵.

Membrana externa	NADH-citocromo c reductasa Acyl-CoA sintetasa Nucleósido-difosfato-kinasa Monoamino-oxidasa Kinureina-oxidasa Fosfolipasa A Colina-fosfotransferasa
Espacio intermembrana	Adenilato-kinasa Sulfito-oxidasa
Membrana interna	NADH- dehidrogenasa Succinato-dehidrogenasa Hierro-sulfo proteínas Citocromos b,c,c1, y aa3 F1-ATPasa 3-hydroxibutirato-dehidrogenasa Carnitina-acil-transferasa ADP-ATP-translocasa Pi-OH translocasa Dicarboxilato-translocasa Tricarboxilato-translocasa Translocasas específicas
Matriz	Piruvato-dehidrogenasa Citrato-sintetasa Aconitasa Isocitrato-dehidrogenasa Fumarasa Malato-dehidrogenasa Alfa-ketoglutarato-dehidrogenasa Enzimas de oxidación de ácidos grasos Glutamato-dehidrogenasa Ornitina-transcarbamilasa

Tabla 4: Enzimas mitocondriales y su distribución

El intermediario central del metabolismo oxidativo en las mitocondrias es la acetil-CoA, que no solo deriva de azúcares, sino también de ácidos grasos y aminoácidos. Los ácidos grasos son degradados a acetil-CoA a través de la beta-oxidación cuyas enzimas se localizan en la matriz mitocondrial. Aunque la degradación de aminoácidos ocurre principalmente en el citosol, la mitocondria juega un importante papel en este proceso. Hay transaminasas mitocondriales que convierten ciertos aminoácidos a los correspondientes cuerpos cetónicos que pueden entrar al ciclo de los ácidos tricarbónicos⁵⁵. La relación entre los diferentes eventos se muestra en la figura 4.

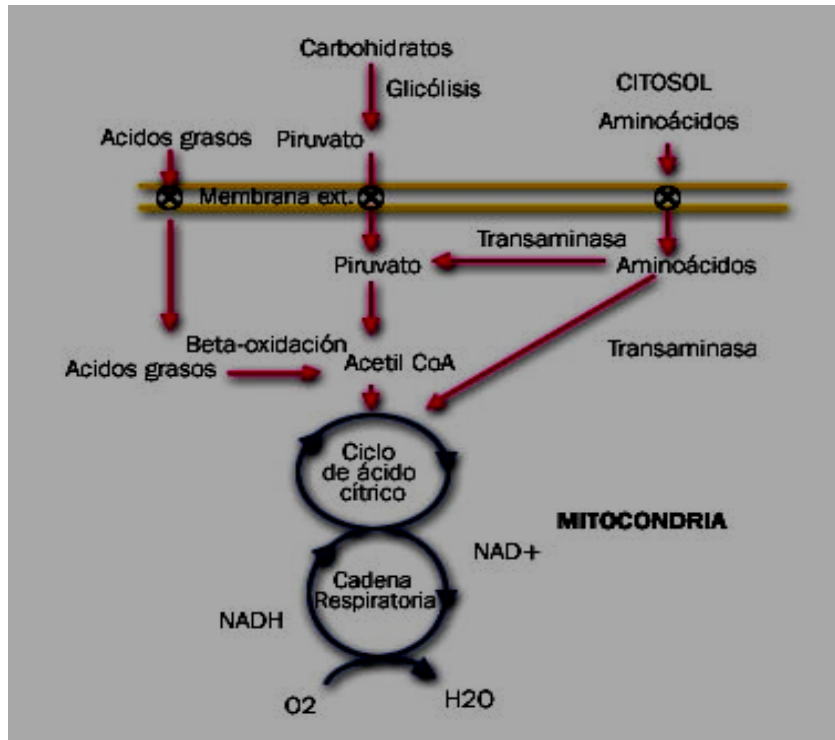


Figura 4: Red oxidativa de la mitocondria

6.5.1.3. La cadena respiratoria .

La cadena respiratoria esta formada por una serie de transportadores de electrones capaces de experimentar cambios reversibles en su estado redox. En la figura 5 se puede apreciar la producción de radicales libres oxigénicos en la cadena de transporte de electrones mitocondriales.

La figura 6 muestra un esquema del ordenamiento de los transportadores de electrones en la cadena respiratoria, los sitios de acción de algunos inhibidores característicos y los sitios de conservación de la energía.

Los transportadores de electrones pueden ser moléculas orgánicas relativamente simples, como la ubiquinona; nucleótidos como el NADH; o estructuras proteicas, como las flavoproteínas, las hierro-sulfoproteínas o los citocromos.

La estructura en membrana permite fijar los componentes de la cadena respiratoria en un ordenamiento secuencial que facilita la transferencia de electrones entre ellos, lo que determina una alta velocidad y eficiencia del sistema. Cada componente está situado respecto de sus vecinos de tal manera que el transporte de electrones se realiza con la mayor especificidad evitándose reacciones laterales.

En la figura 6 se describen además, las vías de entrada provenientes de las distintas dehidrogenasas. Se puede ver la ubiquinona como el colector de la mayoría de los electrones provenientes de los procesos oxidativos celulares. Los electrones son transferidos a la ubiquinona por una serie de flavoproteínas dehidrogenasas: NADH dehidrogenasa, succinato dehidrogenasa, glicerol-3-fosfato dehidrogenasa, acil (ácido graso)-CoA dehidrogenasa, colina dehidrogenasa. En cambio, hay un solo dador de electrones al oxígeno: el citocromo aa3 o citocromo oxidasa. Entre la ubiquinona y la

citocromo oxidasa, hay varios transportadores intermedios: los citocromos bk, bT, c1 y c; y algunas hierro-sulfo proteínas.

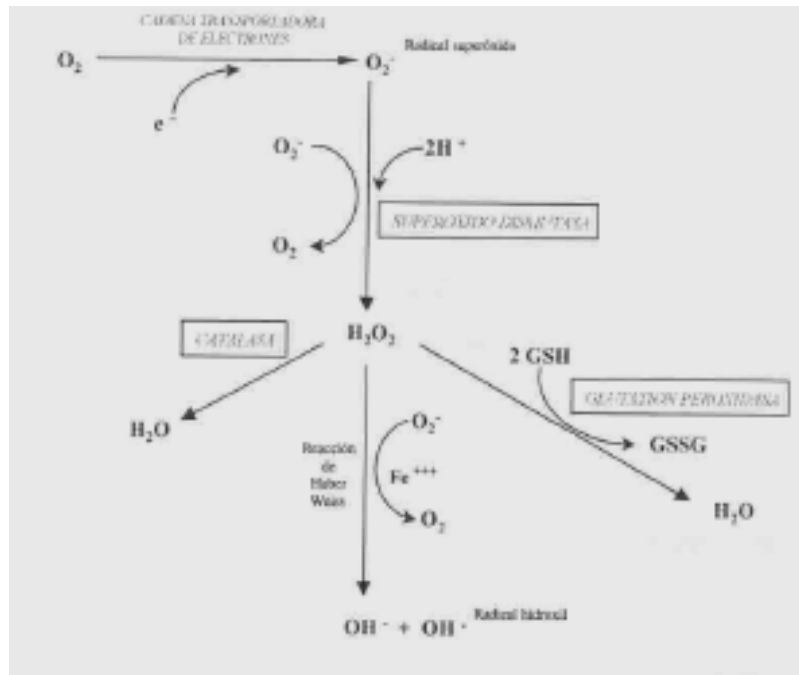


Figura 5: Producción de radicales libres oxigénicos en la cadena de transporte de electrones mitocondriales.

Ninguno de los citocromos además de ser transportadores univalentes de electrones, son capaces de ceder electrones al oxígeno con velocidad comparable a la citocromo oxidasa, lo que determina el papel cinético esencial de esta enzima terminal para la respiración celular juntamente con su capacidad de transferencia tetravalente de electrones al oxígeno para formar agua¹³⁶.

Por fraccionamiento salino de la membrana mitocondrial interna con sales biliares, es posible aislar complejos constituidos por varias proteínas. La composición de estos refleja el ordenamiento de los constituyentes de la cadena respiratoria¹³⁶. Estos complejos son:

Complejo I: NADH: ubiquinona dehidrogenasa (NADH-DH). El NADH es un nucleótido con electrones de alta energía proveniente del ciclo del ácido cítrico. El complejo I transfiere dichos electrones del NADH -por acción de la NADH dehidrogenasa - a la ubiquinona o coenzima Q (CoQ) y luego al succinato, que es el siguiente paso en la cadena de transporte. Al pasar de un transportador al siguiente, los electrones liberan energía que es utilizada por el complejo I para bombear protones (H^+) de la matriz al espacio intermembrana. Esto genera un gradiente transmembrana que termina activando a la enzima ATPsintetasa o ATPasa.

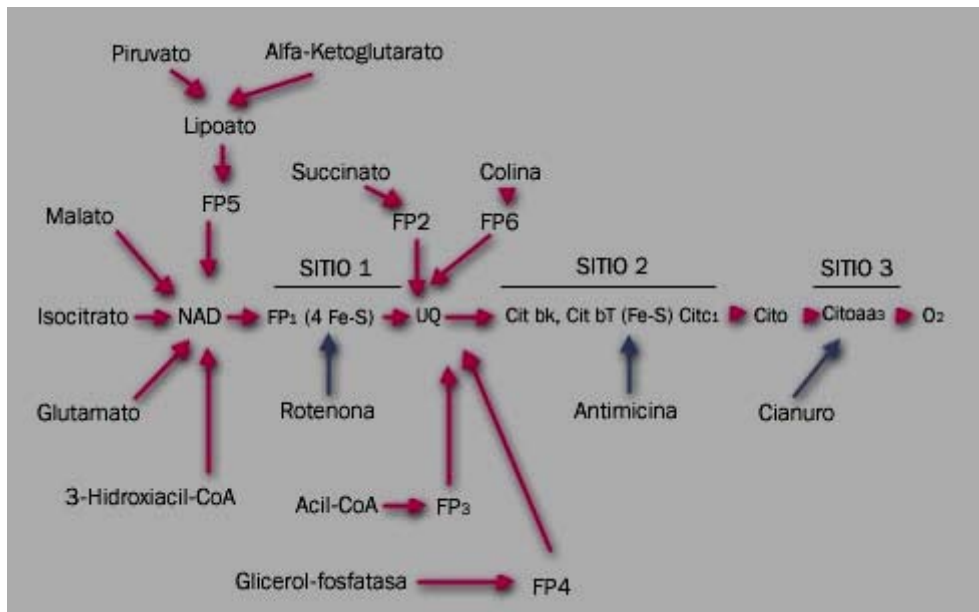


Figura 6, Cadena respiratoria: FP1: NADH-dehidrogenasa; FP2: succinato dehidrogenasa; FP3: acyl-CoA-dehidrogenasa; FP4: glicerol-3-fosfato-dehidrogenasa; FP5: di hidrolipoi-dehidrogenasa; FP6: colina-dehidrogenasa.

Cada complejo en la cadena respiratoria tiene mayor afinidad por electrones que su predecesor, a su vez, éstos van perdiendo energía a medida que recorren la cadena.

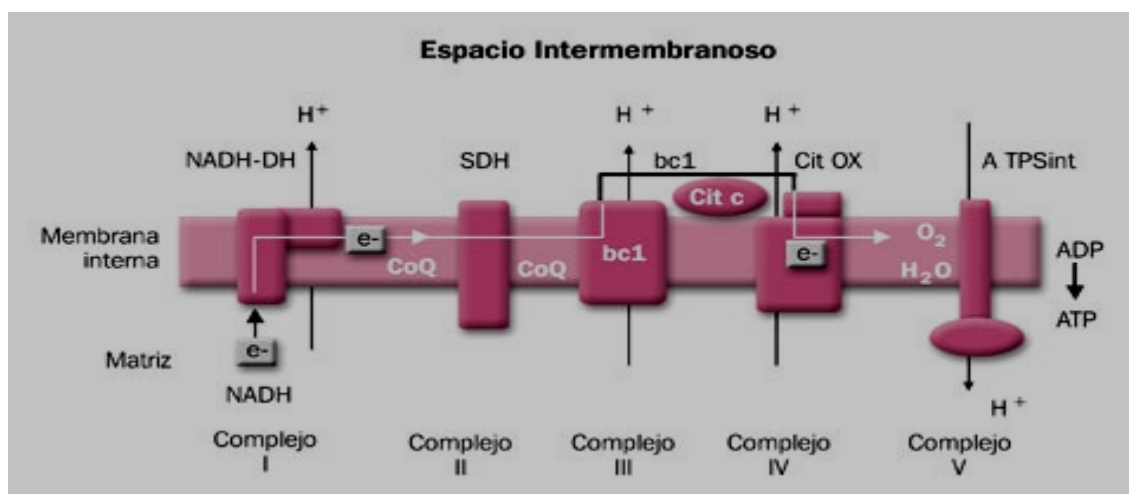


Figura 7: Complejos mitocondriales.

Complejo II: Succinato-ubiquinona reductasa. Este complejo enzimático transfiere electrones del succinato a la CoQ. En esta etapa no se produce translocación de protones a través de la membrana y por lo tanto el Complejo II es un simple transportador entre el Complejo I y el III.

Complejo III: Citocromo bc1: Transporta electrones de la CoQ al citocromo c. En esta etapa hay translocación de protones.

Complejo IV: Constituido por la enzima citocromo oxidasa (Cit OX, en el esquema) que utiliza al citocromo c (Cit c) como sustrato. La enzima toma 4 electrones del citocromo c y los transfiere a dos moléculas de oxígeno formando agua. Esta es la única circunstancia en que el oxígeno (que por su estructura atómica solo puede tomar uno o a lo sumo dos electrones a la vez), adquiere en forma simultánea 4 electrones. En esta etapa hay translocación de protones.

Complejo V: Constituido por la enzima ATPasa que funciona en forma reversible. La enzima aprovecha la energía generada por la translocación de protones en los complejos I, III y IV para sintetizar ATP que es el objetivo final de todo este mecanismo. Actuando en forma reversible, la ATPasa puede a su vez, hidrolizar el ATP para bombear, contra gradiente, electrones desde el espacio intermembrana hacia la membrana, o sea el mecanismo inverso que se verificaba en los complejos I, III, y IV.

6.5.1.4. Producción mitocondrial de especies reactivas del oxígeno .

Si bien en la mitocondria el 99% del oxígeno se reduce a agua, aproximadamente el 1% restante es reducido parcialmente a O_2^- por la cadena respiratoria mitocondrial⁴⁹⁸. Este fenómeno fue descrito por primera vez por Loshen y col²⁷⁹ y, poco tiempo después, Boveris y Cadenas⁵⁹ demostraron que el O_2^- es el precursor estequiométrico del H_2O_2 . Esto indica que la producción de H_2O_2 en las mitocondrias es el resultado de la reducción univalente del oxígeno por algunos de los transportadores de electrones de la cadena respiratoria. Varios estudios diseñados para identificar los componentes responsables de la producción de O_2^- llevaron a la conclusión de que la reducción monovalente del oxígeno ocurre en el Complejo III (probablemente como resultado de la autooxidación de la semiquinona derivada de la coenzima Q o ubisemiquinona^{84 499} y en el Complejo I (probablemente como resultado de la autooxidación de la semiquinona derivada del grupo flavina asociado con este complejo).

6.5.1.5. Papel de la producción mitocondrial de O_2^- en los procesos tóxicos .

Dado que la formación de O_2^- es un proceso no enzimático, esta actividad al no ser acelerada por enzimas, no se incrementa ante una mayor concentración de oxígeno. Como la cadena respiratoria mitocondrial de las células epiteliales del pulmón, se encuentra siempre saturada con oxígeno, la mayor concentración de oxígeno en el aire se refleja en un aumento lineal en la producción de O_2^- . La baja solubilidad del oxígeno en el plasma (aproximadamente 0.2 mM) es el resultado del aumento sustancial de su concentración en otros tejidos, los cuales reciben el oxígeno a través de la hemoglobina.

Cuando la concentración de oxígeno en el aire es normal (20%), su saturación en la hemoglobina es máxima. Pero, y de acuerdo con la ley de Henry, ante una mayor concentración del oxígeno respirado, la concentración aumenta proporcionalmente en el plasma, aun cuando, en condiciones normobáricas, mantiene valores relativamente bajos y es eliminado rápidamente por los tejidos. Sin embargo, cuando la alta concentración de oxígeno en el aire es acompañada por un aumento de la presión, se produce un efecto sinérgico, dado que, en tales circunstancias, las concentraciones del oxígeno que se disuelve en el plasma son más altas y se produce toxicidad en territorios más distales.

Como resultado de la mayor concentración del estado estacionario de O_2^- , a nivel clínico se observa que, en condiciones normobáricas el incremento en la concentración de oxígeno produce toxicidad pulmonar, mientras que, en condiciones hiperbáricas se producen daño al sistema nervioso central y convulsiones.

La mitocondria también puede generar O_2^- en forma indirecta, como resultado de la transferencia de electrones por parte de varios componentes de la cadena respiratoria mitocondrial a moléculas xenobióticas, o sea sustancias ajenas al organismo. Las mismas, una vez reducidas, pueden a su vez reducir el oxígeno a O_2^- , y aumentar su estado estacionario. Un ejemplo de este proceso lo constituye la toxicidad cardíaca de la droga antitumoral adriamicina (doxorubicina), la cual es reducida por el Complejo I mitocondrial²⁹². De esta manera la adriamicina se transforma en un productor de especies reactivas del oxígeno y esa puede ser la base, al menos en parte de su toxicidad.

6.5.1.6. *Papel de la producción mitocondrial de radicales libres en la apoptosis.*

Tal como se dijo más arriba, la producción de O_2^- lleva a la formación de oxidantes aun más poderosos, como el $\cdot OH$, capaces de oxidar indiscriminadamente lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Uno de las reacciones entre el $\cdot OH$ y los aminoácidos es la formación de cistina, que resulta de la oxidación de la cisteína, un aminoácido que contiene un grupo tiol ($-SH$). Este tipo de reacciones lleva a la formación de agregados de proteínas, tales como los que se observan durante la formación de poros de transición en la membrana mitocondrial⁵⁰⁴, que conlleva la pérdida de potencial en esa membrana y la liberación del citocromo c desde el espacio intermembrana al citoplasma de la célula. Una vez en el citoplasma, el citocromo c activa unas proteinasas específicas, las caspasas, que participan en la destrucción sistemática de varios componentes intracelulares. Todos estos procesos constituyen los primeros pasos de la cascada de reacciones que culminan en la apoptosis o muerte celular programada.

Por otra parte, la liberación de citocromo c es prevenida por varias proteínas asociadas con la membrana externa de la mitocondria, incluyendo Bcl-2⁸².

Otros mecanismos llevan a la apoptosis, por señales citoplasmáticas, como la formación de poros en la membrana externa por varias proteínas incluyendo, Bax, Bad, etc^{82 173} seguido por la liberación de citocromo c.

6.5.1.7. *Formación de óxido nítrico por la mitocondria.*

En los últimos años se ha descubierto que la mitocondria es capaz de producir NO a través de una óxido nítrico sintasa (NOS) calcio dependiente, localizada en la membrana interna mitocondrial^{164 168}. Este descubrimiento abrió un nuevo capítulo en los estudios sobre la generación de oxidantes mitocondriales.

La aptitud de la matriz mitocondrial para producir NO tiene varias implicancias. Por una parte, el NO podría actuar como un mensajero fisiológico que modula la velocidad del flujo de electrones en ciertas condiciones fisiológicas (por ejemplo en la hipoxia). Asimismo, es posible imaginar una variedad de escenarios donde la combinación de NO y O_2^- lleve a la formación de ONOO $^-$. Es así que el NO puede

reaccionar directamente con las hemoproteínas (por ejemplo, el Complejo III de la cadena respiratoria⁶⁸ para inhibir la capacidad de transportar electrones, y por lo tanto, impedir la respiración mitocondrial^{389 390}. Como resultado de esa inhibición se acumulan electrones en la cadena respiratoria, lo cual provoca que algunos de los componentes mitocondriales -no todos-, aumenten la generación de O_2^- y, por lo tanto, de ONOO- y de H_2O_2 ³⁹⁰. La generación de estos oxidantes llevaría a la oxidación de proteínas y a la liberación de citocromo c al citoplasma, dando inicio a la apoptosis celular¹⁶⁵.

También es posible proponer un escenario en el cual el NO estimula la generación de O_2^- en ambos sitios de la cadena respiratoria. Por ejemplo, si el NO se asociara parcialmente con los grupos hemo de todos los citocromos, tanto los citocromos b como la citocromo oxidasa podrían resultar parcialmente inhibidos. Esto permitiría un bajo flujo de electrones provenientes del ubiquinol, suficiente para mantener una elevada concentración de estado estacionario de ubisemiquinona, favoreciendo la formación de O_2^- en los dos sitios.

Durante la reperfusión del miocardio isquémico hay un aumento en la producción de ONOO-⁵²¹. La actividad intramitocondrial de NOS sería uno de los factores que contribuyen al aumento en la generación de ONOO- cuya toxicidad sería en parte responsable de la destrucción mitocondrial que se observa después del infarto. Entre otras características, después de la reperfusión las mitocondrias presentan depósitos de hidroxapatita (fosfato de calcio) lo cual indica un ingreso masivo de calcio hacia la matriz mitocondrial³³⁶. En estudios realizados in vitro se observó que al incubar mitocondrias aisladas de miocardio normal con altas concentraciones de calcio, hay una inhibición en el flujo de electrones y un aumento en la generación de O_2^- en el Complejo I⁵⁰⁰. La incorporación masiva de calcio podría activar a la NOS, llevando a la inhibición del transporte de electrones y a incrementar la generación de O_2^- , tal como fue descrito recientemente en varios estudios^{179 389}.

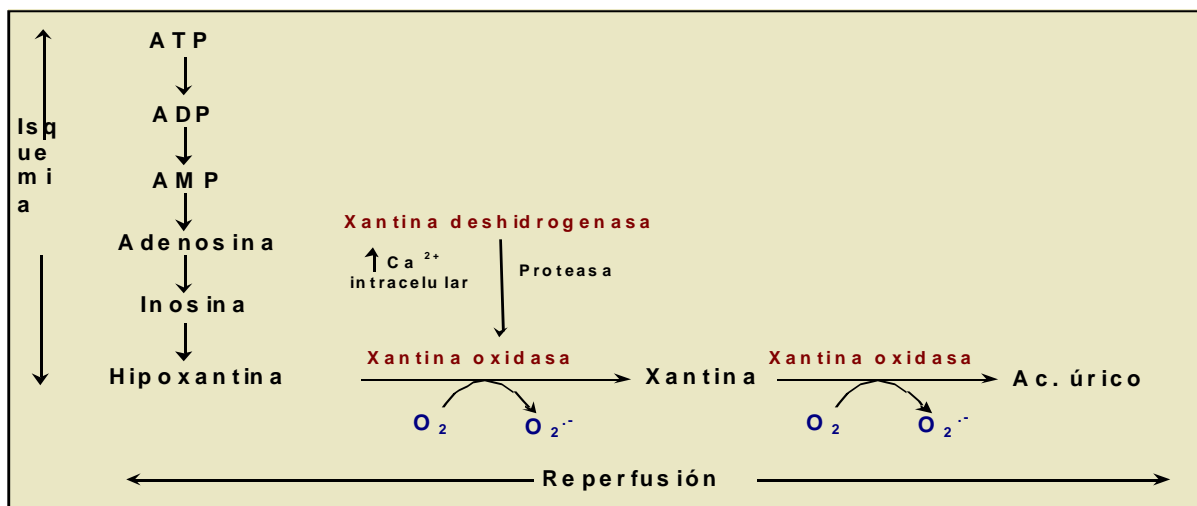


Figura 8: Esquema del mecanismo de generación de anión superóxido por el sistema xantina oxidasa durante la isquemia-reperfusión

En los treinta años transcurridos desde que se identificó el papel de la cadena respiratoria mitocondrial en la generación de O_2^- , la evidencia acumulada indica que

esta actividad es central en una variedad de procesos intracelulares tanto fisiológicos, como patológicos. El reciente descubrimiento de la NOS agrega otro grado de complejidad a los modelos iniciales, dado que el producto de la reacción catalizada por esta enzima puede inhibir el flujo de electrones en la cadena respiratoria e incrementar la generación de O_2^- y, a su vez, reaccionar con el O_2^- formado para producir ONOO $^-$.

6.5.2. Xantino oxidasa .

La alteración de los mecanismos homeostáticos celulares, como puede suceder en situaciones de hipoxia o isquemia, puede conducir a un aumento del calcio citosólico y consecuentemente a la activación de enzimas dependientes del calcio. Entre estas enzimas contamos con una proteasa que modifica covalentemente la xantino deshidrogenasa, convirtiéndola en xantino oxidasa. Figura 8.

Esta última provoca la oxidación univalente de las purinas, con la producción conjunta del anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) y, quizás, de singletes de oxígeno. Los estudios realizados con alopurinol u oxipurinol, que inhiben la xantino oxidasa, han mostrado una protección contra el daño causado por la isquemia-reperfusión en distintas especies animales.

6.5.3. Metabolismo del ácido araquidónico .

La estimulación de la fosfolipasa A_2 , como sucede durante la reperfusión tras isquemia, en presencia de iones calcio (Ca^{++}), conduce a la liberación de ácido araquidónico a partir de las membranas celulares. Mediante la acción catalítica de dos enzimas distintos, la ciclo-oxigenasa y la hidroperoxidasa, el ácido araquidónico se oxigena en primer lugar a prostaglandina G_2 (PGG_2) y posteriormente se convierte en Prostaglandina H_2 (PGH_2). Durante este último paso también sería posible la producción de $O_2^{\cdot -}$, cuando haya disponibles NADH o NADPH²⁵³. La actividad hidroperoxidasa también conduce a la producción de O_2 .

6.5.4. Fagocitos y otras fuentes de radicales .

Los fagocitos, al igual que los leucocitos polimorfos nucleares, constituyen otra fuente biológica importante de aniones superóxido y de otros tipos derivados reactivos del oxígeno. El anión superóxido también puede provenir de la oxidación espontánea de las flavinas reducidas y de las catecolaminas. Aún sigue debatiéndose el grado de participación de éstas fuentes de radicales libres en la lesión por isquemia-reperfusión.

Tanto los fagocitos como los leucocitos polimorfos nucleares poseen diversos mecanismos microbicidas, el más importante de los cuales depende del oxígeno. En estado de reposo la principal vía energética utilizada por los fagocitos es la glucólisis, de hecho, estas células poseen muy pocas mitocondrias. La alteración de su membrana plasmática desencadenada por el contacto con los microorganismos, y por diversos agentes solubles, provoca un rápido aumento del consumo de oxígeno. Desde los primeros momentos tras el descubrimiento de este fenómeno quedó claro que este súbito aumento del consumo de oxígeno no estaba relacionado con un aumento de la actividad respiratoria mitocondrial.

Tras la fagocitosis, el oxígeno se utiliza realmente para producir derivados reactivos del oxígeno, dotados de una fuerte actividad microbicida (anión superóxido, peróxido de hidrógeno), en estas reacciones intervienen enzimas como la superóxido dismutasa (SOD).

La mieloperoxidasa es una hemoproteína con actividad enzimática altamente microbicida.

En los fagolisosomas también es posible que se produzca la formación del poderoso radical hidroxilo por la clásica reacción de Fenton.

Tras la activación de los fagocitos también se liberan ácidos grasos a partir de los fosfátidos. La movilización de los iones calcio activa la fosfolipasa A₂, que libera un ácido graso insaturado del carbono 2 de los triglicéridos. Si éste es el ácido araquidónico, la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa actúan formando prostaglandinas, leucotrienos, y tromboxano.

6.5.5 Metales en la producción de radicales libres .

Fundamentalmente son el hierro y el cobre los que participan en la génesis de derivados oxigénicos más agresivos. En ocasiones precisan la presencia de agentes reductores como el ácido ascórbico. Los organismos tienden a evitar la disponibilidad de estos metales ya sea unido a proteínas de transporte como de almacenamiento. Sin embargo, el estrés oxidativo por sí mismo puede movilizar el hierro desde las estructuras celulares que las contienen.



Al describir la formación del anión superóxido y del peróxido de hidrógeno mostramos que poseen una reactividad relativamente bajas como tales. La génesis de derivados oxigénicos más agresivos supone la participación de metales de transición disponibles, principalmente hierro (Fe^{2+})³²² y cobre (Cu^{2+}).

El hierro ferroso (Fe^{2+}), por ejemplo, reacciona con el peróxido de hidrógeno provocando una reducción que divide su molécula en OH^- y HO^\cdot , el altamente reactivo radical hidroxilo. Esta reacción supone la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} , y aunque para iniciar la peroxidación ya es necesario que exista una cierta relación entre $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, es evidente que diversos agentes reductores son capaces de estimular la formación de HO^\cdot en presencia de H_2O_2 y Fe^{3+} , mediante la donación del electrón necesario para reducir el Fe^{3+} a Fe^{2+} . Uno de estos posibles agentes reductores es el ácido ascórbico.

El anión superóxido también puede reducir el Fe^{3+} , promoviendo así la reacción de Fenton. Figura 9.

Esta reacción, en ocasiones denominada reacción de Fenton, conducida por el superóxido¹⁵², hace que este anión sea capaz de generar HO^\cdot , siendo responsable, al menos en parte, del daño causado a las células por la acelerada producción de derivados reactivos del oxígeno. De acuerdo con estos mecanismos, resulta evidente la

importancia de la disponibilidad de iones hierro y cobre para poder formar el peligroso radical hidroxilo. Los organismos tienden a mantener controlada la disponibilidad de hierro “libre”, utilizando proteínas especiales adecuadas para su transporte, como la transferrina, y para su almacenamiento, como la ferritina y la hemosiderina. Por ello, el secuestro de los metales de transición puede considerarse como un importante mecanismo de defensa antioxidante. El estrés oxidativo por sí mismo puede movilizar este hierro desde las estructuras moleculares que lo contienen. Por ejemplo, se ha mostrado que el anión superóxido puede movilizar el hierro desde la ferritina, y que el H_2O_2 puede atacar a los grupos hemo y liberar hierro⁴⁴⁰.

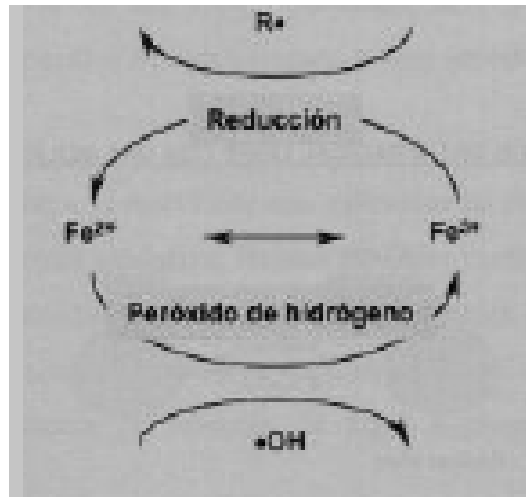


Figura 9: Reacción de Fenton, en la que se muestra la generación de radicales hidroxilo mediante una reacción catalizada por metales de transición, en presencia de peróxido de hidrógeno reductores como el ácido ascórbico.

En ocasiones los metales referidos precisan de agentes reductores como el ácido ascórbico para liberarse de su molécula de transporte.

6.5.6. Activación de xenobióticos

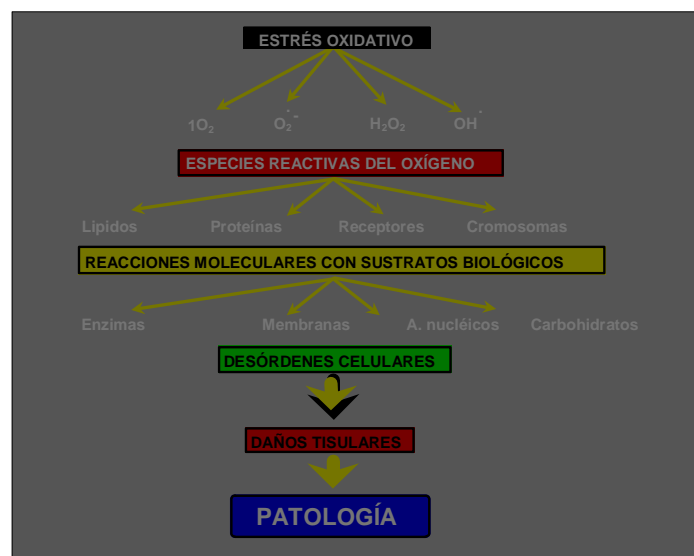


Figura 10.- Cascada de múltiples alteraciones del metabolismo celular por estrés oxidativo

Durante la activación metabólica de xenobióticos, se produce un goteo de electrones desde el citocromo P450 en el retículo endoplásmico del hígado formándose radical superóxido.

6.5.7. Radiaciones ionizantes .

El medio ambiente que nos rodea motiva la exposición a múltiples radicales libres derivados de la polución o de la luz solar y otras radiaciones. Así, en el aire podemos encontrar sustancias como el dióxido de nitrógeno, el ozono y el óxido nítrico. El humo del tabaco presenta, a su vez, elevadas concentraciones de óxido nítrico, radicales peroxilo y radicales centrados en el carbono, entre otros, por lo que supone una importante fuente de producción de radicales libres, cuyo efecto lesivo se ve aumentado por el importante acumulo de hierro y de macrófagos que existe en los pulmones de los sujetos fumadores.

Tanto la luz solar (en su espectro visible e invisible) como las radiaciones ionizantes son capaces de activar muchos átomos y moléculas, y entre ellos particularmente el oxígeno, llevándolos a un estado excitado. Un electrón apareado del orbital completo salta a un orbital más externo (singlete excitado) y al cambiar su espín se transforma en un triplete excitado, que ya es un radical libre¹⁴⁹.

Todas las vías comentadas hasta el momento, así como otras no mencionadas, pueden producir situaciones en las que se induce un estrés oxidativo. Figura 10.

Por todas estas causas, y por otras cuantitativamente menos importantes, se pueden por tanto producir situaciones en las que se induce un estrés oxidativo, implicado a largo plazo en multitud de patologías como enfermedades pulmonares, desórdenes inmunológicos, isquemia miocárdica y cerebral, aterosclerosis, artritis reumatoide, distrofias musculares, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades inducidas por radiaciones, etc.

6.6. EFECTOS DE LOS RADICALES LIBRES EN LOS SISTEMAS BIOLÓGICOS .

6.6.1. Hidratos de carbono .

La importancia de la interacción entre los derivados oxigénicos y los azúcares radica tanto a nivel bioquímico como a nivel patológico, ya que se ha relacionado con patologías como la Diabetes Mellitus¹¹⁴ o a alguno de los daños causados por el humo del tabaco⁵⁰⁹, así como a patologías en las que se produce un aumento de la concentración de ácido hialurónico como en enfermedades reumatoideas y cataratas⁴⁷². Con respecto a al diabetes, se ha observado como gran parte de los daños estructurales y su consiguiente sintomatología puede relacionarse con la interacción entre hidratos de carbono, proteínas y radicales libres. Azúcares como el manitol y la glucosa reaccionan rápidamente con el radical hidroxilo, generándose una reacción en cadena de nuevos radicales mediante procesos de estrés oxidativo, siendo imprescindible para que reproduzca esta reacción metales de transición como el cobre y el hierro que actúan como catalizadores.

El papel de los radicales libres en procesos de daño articular viene dado por la degradación del ácido hialurónico bajo la acción de radicales libres. En condiciones normales, los monosacáridos en presencia de metales de transición, son capaces de reducir el oxígeno molecular auto oxidándose y formando cetoaldehidos y radicales como el $O_2^{\cdot-}$.^{492 541} La glucosa, por su parte, puede unirse a proteínas en los grupos amino terminales, iniciando la glicación de las proteínas¹⁷⁶ según la reacción de Maillard:

Proteína + glucosa → Bases Schiff → productos de Amadori → Doxiglucosa → Productos de Maillard (productos de gluconación avanzada.

Se trata de productos altamente reactivos que trastocan la estructura espacial de las proteínas en presencia de altas concentraciones de glucosa.

6.6..2. ADN.

Entre las consecuencias del estrés oxidativo sobre el ADN se conoce un aumento del número de mutaciones, entrecruzamientos, roturas de las cromátides o pérdidas de fragmentos cromosómicos⁴²². Patologías como la anemia de Fanconi, la esclerodermia, diversos tipos de cáncer, la hipertensión arterial, o los procesos de envejecimiento, son consecuencia de esta interacción.

En situaciones con un alto nivel de estrés oxidativo es más frecuente que el ADN se altere por fragmentación y modificaciones oxidativas en las bases púricas y pirimidínicas que lo conforman. Los radicales libres de oxígeno, y en particular el hidroxilo, presentan una gran afinidad para la fijación a estas bases, con la consiguiente alteración de la estructura del ADN, apareciendo bases oxidadas e hidroxiladas del ADN en la orina, fundamentalmente timina⁴²².

Tanto los radicales libres como los productos de peroxidación lipídica producen daños importantes en el ADN, que se caracterizan por:

- 1) Rotura y alteración de las bases por hidroxilación, particularmente a través del H_2O_2 por la reacción de Fenton.
- 2) Producción de entrecruzamientos entre bandas de ADN que es una de las causas más importantes del envejecimiento y de la transformación maligna de diferentes células.

La interacción de los radicales libres del oxígeno con el ADN se puede producir de manera directa (por ejemplo, mediante el radical hidroxilo), o indirecta (por medio de peróxido de hidrógeno o de oxígeno, por ejemplo) en presencia de metales de transición y con la posterior formación de radicales hidroxilo. A este respecto cabe señalar la especial toxicidad del radical H_2O_2 por su capacidad de atravesar membranas y producir radicales hidroxilo⁶⁵. Entre los daños producidos por los radicales libres de manera indirecta, cabe citar el mediado por las endonucleasas calcio dependientes⁴²².

La lesión producida por radicales libres en el ADN mitocondrial se ha relacionado de manera llamativa con los procesos de envejecimiento⁴¹⁵.

6.6.3. Proteínas .

El resultado de la interacción de los radicales libres con los aminoácidos proteicos es la generación de cambios en la estructura de las proteínas, pérdida de su capacidad funcional, y entrecruzamientos catalíticos⁵³⁶. Este tipo de daño se puede catalogar, en general, en dos tipos:

- a) ataques difusos que originan modificaciones generalizadas.
- b) Ataques selectivos que dan lugar a modificaciones en puntos concretos de la proteína.

Entre los primeros se encuentran las lesiones que se aprecian tras exposiciones a radiaciones ionizantes, ozono o las secundarias a la cadena de propagación de radicales libres, entre las que destaca la lipoperoxidación y la producción de entrecruzamiento catalítico por parte del malondialdehído¹⁶⁷. Se producen alteraciones en diversas regiones de la proteína, lo que conlleva modificaciones en su estructura, agregaciones intra e intercatenarias, y fragmentación proteica. Las modificaciones específicas se caracterizan por su gran selectividad. Los aminoácidos más frecuentemente atacados son la histidina, la prolina, la lisina y la arginina.

El daño en las proteínas conlleva alteraciones en las estructuras de las que éstas forman parte, por lo que se producen anomalías en la permeabilidad celular, daños en el citoesqueleto o roturas en los ácidos nucleicos por alteración en la bomba ATP-asa dependiente, ya que la oxidación de proteínas disminuye consecuentemente la actividad de la Na⁺/K⁺ ATPasa y otras enzimas, pero además, el H₂O₂ produce disminución de la formación de ATP, lo que comporta importantes consecuencias a nivel de electrofisiología celular.

Los radicales libres pueden peroxidar las cadenas de aminoácidos que forman las proteínas, y atacar los grupos sulfidrilos de los aminoácidos azufrados, que, por su parte, son eliminadores de los radicales libres.

La cisteína, que forma parte de los puentes disulfuro entre cadenas peptídicas e incluso dentro de las mismas cadenas, representa a través de este mecanismo reversible un importante factor regulador metabólico. Sus funciones difieren ampliamente según se encuentre libre o formando parte del glutatión y dependiendo además del estado de autoxidación de ambos compuestos.

6.6.4. Lípidos .

La peroxidación lipídica se define como el daño oxidativo ejercido sobre los lípidos provocado especialmente en los ácidos grasos insaturados^{189 453}, la lipoperoxidación ha sido implicada en multitud de procesos patológicos, siendo, en palabras de Halliwell y Chirico, “la más clara evidencia de que los radicales libres están involucrados en muchas enfermedades humanas”¹⁸⁹.

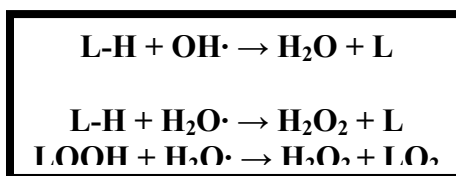
La manifiesta susceptibilidad de estos ácidos grasos viene dada por la formación de un radical libre adyacente a un grupo lipófilo. Así, aunque la vía más inmediata para producir oxidaciones sería la reacción directa con el oxígeno, dicha molécula es débil debido a que sus dos electrones desapareados tienen espín paralelo, por lo que la oxidación de los lípidos en el organismo resultaría un proceso lento. Sin embargo si los lípidos se transforman previamente en radicales libres al perder un átomo de hidrógeno, la reacción con el oxígeno molecular se produciría más fácilmente. De este modo se genera un radical peroxi (ROO[•]) que es el principal marcador de la peroxidación lipídica.

Se podría resumir como un daño oxidativo de ácidos grasos poliinsaturados producido mediante un proceso autocatalítico incontrolable que representa una forma de producción de daños tisulares y celulares habitualmente iniciada por especies reactivas del oxígeno, formándose una cascada de reacciones y producción de radicales libres con la formación de peróxidos orgánicos y otros productos a partir de ácidos grasos insaturados.

Los ácidos grasos más susceptibles de sufrir este proceso son los que presentan mayor número de dobles enlaces, como el araquidónico (C20:4n6), el docosahexaenoico (C22:6n3) y el linoleico (C18:2n6). El producto final de la peroxidación lipídica (Tabla 5) es la formación de hidroperóxidos de ácidos grasos y metabolitos derivados, algunos de ellos altamente tóxicos, como los aldehídos malondialdehído (MDA) y 4-hidroxinonenal. Se forman también dihidrocarburos como el pentano o el etano, cuya eliminación por la respiración los hace útiles como marcadores del proceso.

Se considera un hecho probado el papel que en daño tisular juega la lipoperoxidación. El proceso de lipoperoxidación puede dividirse esquemáticamente en tres fases: iniciación, propagación y terminación.

A) Iniciación: Se inicia con el ataque de radicales libres a los ácidos grasos, con la consiguiente sustracción de un átomo de hidrógeno de un metilo de la cadena de aquéllos, lo que origina un radical lipídico centrado en el carbono^{102 189}. Entre los radicales libres que originan estos procesos destacan el radical hidroxilo y la forma protonada del anión superóxido⁴⁷:



n-Alcanales	2-Alquenes	4-Hidroxi-alquenes	Otros
Propanal	Acroleína	4-Hidroxinonenal	Malondialdehído
Butanal	Pental	4-Hidroxiheptenal	2,4-Heptadienal
Pentanal	Hexenal	4-Hidroxi-2,5-nadlenal	2,4-Decadienal
Hexanal	Octenal	4,5-Dihidrodecenal	5-Hidroxiocetanal
Nonanal	Nonenal		Butanona

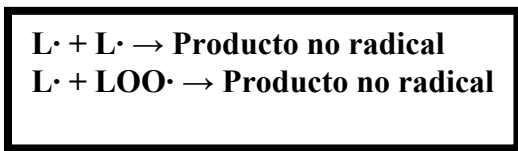
Tabla 5: Ejemplos de productos secundarios de la peroxidación lipídica.

Los procesos con hierro se consideran los verdaderos iniciadores de la peroxidación lipídica, porque la mayoría de estudios coinciden en señalar la participación de metales iónicos de transición en la génesis de este proceso. Los hidroperóxidos lipídicos son generalmente considerados como productos primarios de la peroxidación lipídica.

B) Propagación: También denominada iniciación secundaria, es la activación de la peroxidación lipídica por un radical lipídico. En esta fase se produce un acúmulo de peróxidos lipídicos¹⁰². Se trata de una cadena de reacciones autocatalíticas con suficiente potencial como para consumir todos los PUFAs preexistentes en el lugar del proceso.

Los productos derivados de esta fase son muy variados, como consecuencia de los distintos isómeros que se pueden originar³⁹³. Los peróxidos lipídicos son altamente inestables en presencia de metales de transición, cuya presencia rompe estos compuestos, generando radicales libres que a su vez inician nuevas cadenas de lipoperoxidación. La importancia de la ruptura de los hidroperóxidos lipídicos radica en dos conceptos: por un lado, por la generación de radicales que propagan y multiplican esta reacción; de otra parte, por generar productos no radicales que sin embargo presentan en muchos casos (ej. aldehídos) actividad biológica.

C) Reacciones de terminación: La finalidad de esta fase es la formación de productos no radicales, lo que se consigue, en caso de condiciones favorables mediante la interacción radical-radical. Conviene recordar, llegados a este punto, la formación de oxígeno singlete a partir de la interacción de radicales peróxido¹⁰².



6.6.4.1. *Otras consecuencias biológicas de la peroxidación lipídica.*

Como ya se ha citado anteriormente la peroxidación lipídica es un proceso de alta capacidad destructiva, derivada de dos aspectos: el daño directo a las células (por ataque directo a las membranas), y el indirecto (por liberación de productos reactivos)¹⁰².

El *daño directo* está determinado por la afectación de las propiedades biofísicas de las membranas tras la lipoperoxidación, puesto que las moléculas grasas que las sustituyen son la diana de este proceso. Se produce un descenso en la fluidez de la membrana, como cambios en sus propiedades y disminución de su resistencia eléctrica. Con ello, se alteran las funciones de la membrana, entre ellas la principal, la de barrera³⁶⁴.

Los *efectos indirectos* se deben a la formación de compuestos, fundamentalmente productos carbonilos de la peroxidación, con actividad biológica definida y que pueden difundir fuera del sitio de producción.

A) *Efecto sobre las membranas celulares*: Tanto si los ácidos grasos se ingieren ya parcialmente oxidados, como si su producción es endógena, las secuelas son numerosas incluyendo:

- 1) Perturbación de la microarquitectura de las membranas celulares (plasmática, fracción microsomal y mitocondrial), debido sobre todo a la introducción de funciones hidrofílicas.
- 2) Inhibición de la actividad de enzimas por hidroperóxidos.
- 3) Formación de productos, como el etano y el malondialdehído a consecuencia de la rotura de las cadenas hidrocarbonadas de los hidroperóxidos.

B) *Antineoplásicos (adriamicina y daunomicina)*: La adriamicina desempeña un papel importante para el tratamiento de carcinomas, como el de mama, pulmón, ovario y tiroides, así como el tratamiento de determinados sarcomas. Su metabolito principal es el doxorubicinol, con actividad antitumoral también.

La daunomicina se utiliza fundamentalmente para el tratamiento de las leucemias linfoblásticas y mieloblásticas agudas. La actividad fundamental de los antitumorales se debe fundamentalmente por su unión al DNA, intercalándose entre los pares de bases (Figura 11), siendo activos a través de todo el ciclo celular, aunque la reacción más afecta es el inicio de la replicación del DNA.

Los antitumorales también pueden actuar directamente sobre las membranas celulares y afectar su función. Se postula que la reductasa P450 pueda convertir la adriamicina en un radical libre concretamente al anión $O_2^{\cdot-}$. La adriamicina, además, cataliza la producción de superóxido y peróxido de hidrógeno. La doxorubicina, al reducirse, posibilita la producción de anión $O_2^{\cdot-}$ altamente reactivo.

6.6.4.2. Factores dietéticos que influyen en la peroxidación lipídica.

Existen numerosas situaciones relacionadas con la dieta, que pueden determinar la tasa real de peroxidación lipídica de las membranas. Las más importantes son:

a) *Localización de los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)*: los que se encuentran situados en los fosfolípidos de las membranas parecen más expuestos que los que componen los triglicéridos o los que no están esterificados.

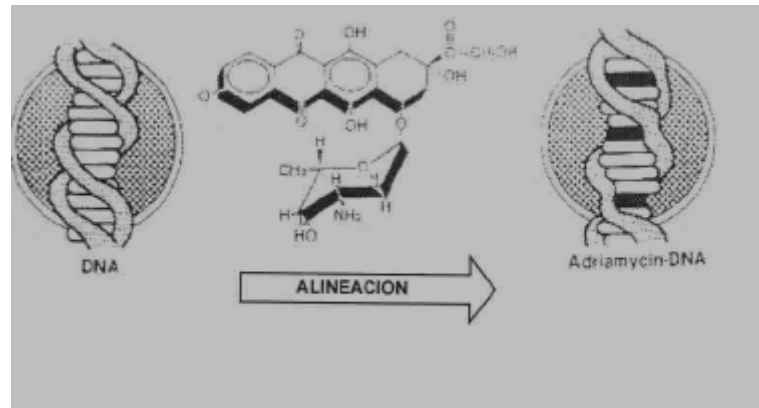


Figura 11: intercalaje de la adriamicina en el ADN

b) *La naturaleza de la molécula de los AGPI de los fosfolípidos*: los AGPI de la serie n-3 que tienen cinco o seis dobles enlaces están más expuestos a la peroxidación lipídica que los de la serie n-6 (C18:2, C20:4). Se ha comprobado en experimentos en ratas que si se adicionan C22:6 n-3 aumenta la susceptibilidad de las membranas del retículo endoplasmático del hepatocito.

c) *Ingestión de ácidos grasos en configuración "trans"*: el proceso de hidrogenación catalítica de los aceites vegetales para convertir los aceites líquidos en grasas semisólidas conlleva como uno de sus efectos secundarios principales la isomerización, formándose más de 20 isómeros de ácidos grasos en posición "trans" y "cis". También están presentes dichos isómeros en distintas proporciones en la grasa de la leche de los rumiantes y en los aceites marinos hidrogenados.

Se ha observado en ratas que los ácidos grasos de configuración "trans" no cumplen las funciones de los ácidos grasos esenciales; algunos resultados apuntan la hipótesis de que éstos ácidos grasos pueden interferir con el proceso de conversión del ácido oleico (normal, cis) en ácido araquidónico. Además, los ácidos grasos "trans" tienden a acumularse en las fracciones fosfolipídicas de las células.

d) *Presencia de metales de transición catalizadores*: El cobre, el manganeso, el selenio, el cobalto, y especialmente los iones ferrosos (Fe^{++}) parecen ser catalizadores muy potentes de la peroxidación de los AGPI *in vitro*. La ferritina, la molécula de almacenamiento de hierro más ubicua en los tejidos, incluyendo las células endoteliales, ha mostrado liberar su hierro bajo la influencia del $O_2^{\cdot-}$. Parece razonable que los iones ferrosos liberados jueguen un papel importante en la formación del OH^{\cdot} y en la posterior peroxidación lipídica (Ignarro L. 1989).

e) *Presencia de antioxidantes*: El papel de la vitamina E, la vitamina C, y los beta-carotenos está ampliamente aceptado en la literatura.

Los requerimientos de vitamina E en la dieta son mayores cuando aumenta el consumo de AGPI (de hecho el contenido de esta vitamina en los alimentos ricos en AGPI está aumentada, salvo en el caso del aceite de pescado), previniéndose con ello la peroxidación de los lípidos de la dieta.

Los carotenoides (beta-carotenos y los propirenos relacionados con los mismos) son sustancias lipofílicas con acción "scavenger" sobre los radicales libres. Sobre su acción antioxidante *in vivo* existen pruebas de carácter tan solo limitado²⁵⁵.

El ácido ascórbico (vitamina C) es una vitamina hidrosoluble, importante en la regeneración de los beta-tocoferoles. A la vitamina C se le atribuyen tanto propiedades antioxidativas como prooxidativas³⁰⁵. Sin embargo lo que interesa conocer es hasta que punto esta vitamina se comporta como un antioxidante a nivel de las membranas biológicas. Su acción prooxidativa está posiblemente relacionada con su modificación debido a la interacción del hierro-ferritina. Los pacientes con una sobrecarga de hierro podrían verse afectados por la acción de la vitamina C debido a que es capaz de liberar más Fe^{++} a partir del complejo hierro-ferritina.

f) Actividad de las enzimas detoxificantes de los radicales libres: El selenio (Se) en la dieta, así como el glutatión reducido, tiene un papel importantísimo sobre la actividad óptima de la glutatión peroxidasa (GPx). El glutatión es un tripéptido, la gamma-glutamil-cisteínglicina. La cisteína puede considerarse como un aminoácido (aa) semiesencial, que se forma a partir de la metionina (aa esencial), a través de la vía de la transulfuración, en donde interviene la enzima cistationasa, o también se puede ingerir en la dieta. La N-Acetilcisteína es una fuente artificial muy valiosa para reducir la toxicidad del oxígeno.

g) Otras situaciones: La exposición al calor de los alimentos, previa a su ingestión modifican y/o alteran la estructura molecular de los nutrientes y particularmente de los ácidos grasos insaturados, además de destruir su contenido en antioxidantes.

6.7. DEFENSAS ENDÓGENAS CONTRA LA ACCIÓN DE LOS RADICALES LIBRES Y LOS HIDROPERÓXIDOS.

Los seres vivos disponen de unos complejos sistemas que tienen como misión la minimización del daño producido por el estrés oxidativo con el objetivo fundamental de mantener el llamado “equilibrio oxidativo”.

Los mecanismos antioxidantes conforman un complejo primario de defensa, compuesto fundamentalmente por la catalasa, la superóxido dismutasa, y las enzimas del ciclo redox del glutatión y un complejo secundario, en el que se integran sustancias de diversas características morfoquímicas⁵³⁷. Los diferentes tejidos y órganos de los seres vivos presentan una sensibilidad también diferente a la acción de los radicales libres, en parte debido a la gran variedad de elementos con capacidad antioxidante y en parte a la diferente concentración de los mismos en las distintas estructuras.

Los antioxidantes tienen diferentes funciones, entre las que se encuentra la supresión de generación de radicales libres, el atrapamiento de éstos y reparación del daño producido, existiendo una estrecha interrelación entre sus componentes.

En la figura 12, se esquematiza este sistema de defensa, siendo tan importante conocer el sistema de defensa del organismo frente al daño oxidativo, como los mecanismos de actuación de los radicales libres.

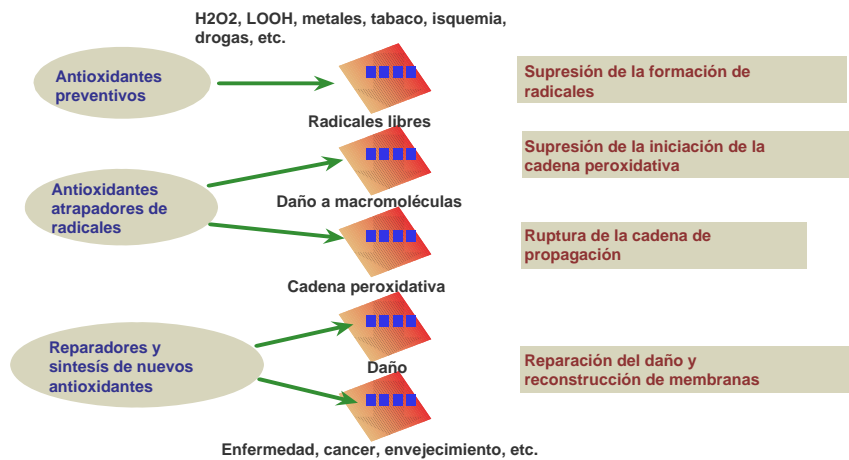


Figura 12- Esquema Representativo de las líneas de defensa frente al estrés oxidativo

A continuación veremos algunos de estos sistemas o mecanismos antioxidantes, que se dividen en enzimáticos y no enzimáticos.

6.7.1. Mecanismos enzimáticos.

6.7.1.1. *Superóxido dismutasa (SOD).*

Se trata de un conjunto de metaloenzimas, cuya característica funcional fundamental es la aceleración de dismutación espontánea del radical superóxido hacia peróxido de hidrógeno y oxígeno, y por la presencia de manganeso (Mn^{++}) en las mitocondrias o cinc-cobre ($Zn^{++} - Cu^{++}$) en el citosol, y que catalizan la siguiente reacción¹⁵³:



Existen por tanto dos formas de SOD intracelulares, la Cu-Zn o citoplasmática, y la Mn o mitocondrial; los genes que las controlan se expresan en todos los tejidos, pero son particularmente bajos en el epitelio respiratorio. Las concentraciones en plasma son muy bajas o nulas. Su mayor concentración parece encontrarse en aquellos lugares donde se puede producir $O_2^{\cdot-}$.

La distribución de la SOD es muy amplia a nivel tisular, con excepción de la Mn-SOD, que no se localiza a nivel eritrocitario; todas ellas ejercen un importante papel en el control de los niveles de radical superóxido a nivel celular³²⁶. El gen de las Cu. Zn SOD se localiza a nivel del cromosoma 21 en seres humanos. El de la Mn-SOD está en el cromosoma 6, en tanto que las SOD extracelulares tienen su gen radicado en el cromosoma 4³²⁶.

La actividad SOD a nivel eritrocitario, según lo aportado por Ripalda et al²⁶⁷, no experimenta variaciones estadísticamente significativas al ser comparada entre pretérminos, recién nacidos a término y adultos. En el período neonatal, su actividad

puede verse influenciada por factores como la anoxia fetal, la acidosis respiratoria y la acidosis metabólica²⁶⁷. Otros trabajos refieren una menor actividad tanto de la SOD como de la catalasa a nivel hemático tanto en prematuros como en recién nacidos con hipoxia crónica²⁷⁸. La administración exógena de SOD ha sido testada en diversos estudios para prevenir la aparición de la enfermedad pulmonar crónica del prematuro. La eficacia de uso de SOD en la prevención de dicho proceso, no ha sido suficientemente probada hasta el momento según los estudios publicados, aunque sí puede al menos afirmarse su buena tolerancia y la ausencia de efectos secundarios adversos serios⁴⁷⁶.

6.7.1.2. *Catalasa*.

De distribución muy amplia, se trata de una enzima ferroporfirínica intracelular, cuya concentración varía en las diferentes estructuras celulares, y entre los diferentes tejidos del organismo, siendo su concentración plasmática baja, en tanto que abunda y es muy activa tanto en hígado como a nivel eritrocitario. Es una enzima que está presente en citosol, mitocondrias y otros orgánulos, y en concentraciones bajas o ausentes en el plasma³; sin embargo puede ser el antioxidante celular más importante cuando se escapa de las células necrosadas, autolimitando la extensión del daño por radicales libres.

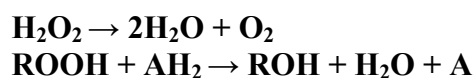
Por otro lado, existen diferencias significativas en la actividad catalasa eritrocitaria entre las distintas etapas de la vida del ser humano. Además, se han detectado diferencias de actividad catalasa entre sexos, con una mayor actividad en mujeres en mayores de 70 años de edad, lo que podría ayudar a explicar la mayor longevidad en este sexo. La actividad catalasa en plasma es significativamente mayor, según datos de Georgeson et al¹⁶¹ en recién nacidos a término, así como en aquellos neonatos nacidos mediante parto eutócico, frente a los nacidos por cesárea y los prematuros. Estudios in vitro realizados para valorar la actividad catalasa en la leche materna tanto de madres con hijos prematuros como de madres con hijos nacidos a término no reflejan diferencias entre ambos grupos, y sí una mayor protección antioxidante que la ofrecida por la leche de fórmula¹⁵⁵.

La función de la catalasa es doble: por un lado cataliza la descomposición de peróxidos de hidrógeno en agua y oxígeno, a la vez que ejerce una función peroxidica, produciendo la oxidación de donadores de hidrógeno como el metano, los fenoles o el etanol con consumo de peróxidos como el H₂O₂³.

Acelera la reacción:



El mecanismo general de la SOD se resume en:

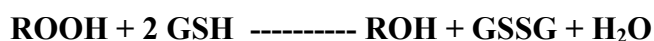


El predominio de la reacción catalítica o peroxídica depende tanto de la concentración de peróxido de hidrógeno en el sistema como de la concentración de donadores de hidrógeno. La descomposición de H₂O₂ por parte de la catalasa es bastante rápida, sin embargo, su afinidad por el mismo es baja, por lo que se requieren altas concentraciones para su descomposición³²⁶. El papel antioxidante de la catalasa es fundamental, considerándose el antioxidante celular más importante cuando se libera de las células necrosadas, limitando el daño causado por los radicales libres.

En clínica se propone su utilización asociada a la SOD en forma de aerosol en patología respiratoria¹¹⁸.

6.7.1.3. *Glutation peroxidasa*.

La glutacion peroxidasa, descubierta por Mills en 1957³²¹ cataliza la reacción de los hidroperóxidos con el glutacion reducido (GSH) para formar el glutacion disulfuro oxidado (GSSG) y el producto de la reducción del hidroperóxido:



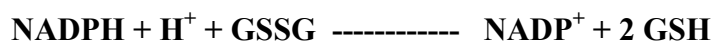
El enzima contiene selenio, probablemente como parte de un centro activo. Es específica para su donante de hidrógeno, GSH, no siendo específica para el hidroperóxido. Esta clara falta de especificidad de sustrato aumenta el rango de los mismos desde H₂O₂ hasta hidroperóxidos orgánicos. Por lo tanto, aunque la glutacion peroxidasa comparte el sustrato H₂O₂ con la catalasa, puede reaccionar sola, del mismo modo, con los hidroperóxidos orgánicos.

En el estado estable se requiere la regeneración del GSH por la reducción del GSSG. La GSSG reductasa, dependiente de NADPH, tiene una distribución subcelular similar a la de la glutacion peroxidasa¹⁴⁶. La oxidación del NADPH une la acción de la glutacion peroxidasa con los sustratos unidos a NADPH.

En situaciones de estrés oxidativo la actividad peroxidasa la realizan las glutacion transferasas, con aumento de la actividad peroxidasa y disminución de la actividad transferasa. En neonatos con shock séptico se ha comprobado que existe un aumento significativo en la actividad de la glutacion peroxidasa sérica, frente a los recién nacidos sin esta patología, secundario probablemente a una contrarregulación frente al aumento de especies oxigénicas que se produce en esta patología. Sin embargo, este aumento de actividad de la glutacion peroxidasa y otras enzimas antioxidantes no se traduce en una mayor protección frente al daño celular³¹.

6.7.1.4. *Glutation reductasa*.

La glutacion reductasa (GR) es una flavoproteína que cataliza la reducción de NADPH dependiente del disulfuro de glutación (GSSG) a glutación reducido (GSH), su actividad permite mantener los niveles de glutación reducido (GSH) para la acción de la glutacion peroxidasa.



La reacción es esencial para el mantenimiento de los niveles de glutatión. Esta molécula tiene un importante papel como reductor de los procesos de óxido-reducción, actuando también en los procesos de detoxicación y en otras funciones celulares de gran importancia⁴⁵.

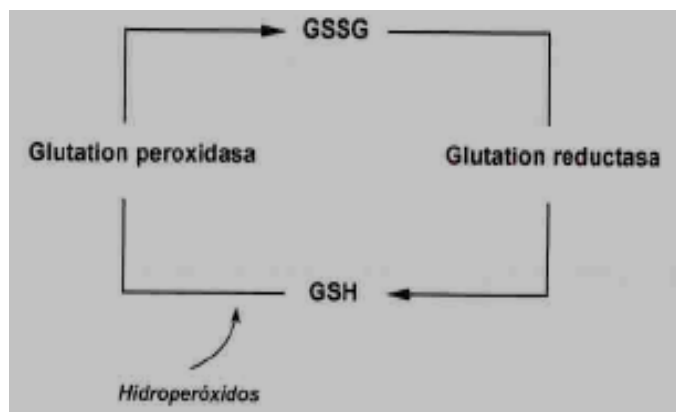


Figura 12: esquema de actuación de la glutatión reductasa.

La acción beneficiosa, por tanto, de un elevado balance GSH / GSSG es necesario para el mantenimiento de la salud, ya que promueve la detoxificación de H_2O_2 , y de otros agentes tóxicos exógenos. N-Acetilcisteína (NAC) y otras moléculas con puentes sulfidrilos (penicilina, captopril, etc.) pueden actuar como antioxidantes al contribuir a la síntesis de glutatión y aumentar por tanto el catabolismo de los radicales libres.

En clínica se puede utilizar por vía oral o en aerosol terapia¹¹⁸.

6.7.2. Mecanismos no enzimáticos.

Como antioxidantes de bajo peso molecular no enzimáticos están las vitaminas E y C, los pro-beta-carotenos, el ácido úrico, la ceruloplasmina, la transferrina, la taurina, DMSO, DMPO, quelantes de metales pesados, taninos, alcaloides del Ginkgo Biloba, selenio, lactoferrina (por su acción limitante en la formación del OH^\bullet al ligarse a dos iones Fe^{3+} por molécula, limitando por tanto la reacción de Fenton), tioxantina, hidroxantina (atrapador del radical OH^\bullet), los ácidos nordihidroguayarático y tiazolidincaboxilo, etc. A continuación se hará un breve repaso de aquellos que se emplean en clínica humana.

6.7.2.1. **Vitamina E** (alfa-tocoferol).

La vitamina E se ha aceptado como el antioxidante rompedor de cadenas y soluble en lípidos más efectivo de la naturaleza, a pesar de su baja concentración molar en las membranas, protegiendo a las mismas del daño de la peroxidación por su actividad exterminadora de los radicales libres.

La vitamina E, después de haber sido oxidada y antes de descomponerse, puede ser reducida de nuevo por el ácido ascórbico y el glutatión.

La función fisiológica más aceptada de la vitamina E es su papel de “scavenger” de los radicales libres, previniendo la lesión oxidativa de los ácidos grasos poliinsaturados y de las proteínas ricas en grupos tiol de las membranas celulares, preservando así la integridad estructural funcional de las organelas subcelulares.

En 1968, Tappel⁴⁸⁶ publicó un artículo en el que sugería que el ácido ascórbico podría reducir los radicales tocoferoxilo formados durante el “scavenging” de los radicales libres formados in vivo durante el metabolismo, lo que permitiría a una molécula de tocoferol limpiar muchos radicales y unirse a la vitamina C para la protección de las membranas contra el daño producido por los radicales libres.

La vitamina C ayuda a mantener los niveles de vitamina E. Esto se podría producir en primer lugar porque la vitamina C en la dieta ayude a prevenir la pérdida oxidativa de los alfa-tocoferoles en la comida durante el proceso de digestión. El ascorbato también podría afectar la distribución del tocoferol disponible en el organismo animal.

6.7.2.2. *Ubiquinona (Coenzima Q₁₀).*

Además de su papel en la cadena respiratoria de la mitocondria, el coenzima Q (CoQ₁₀) puede actuar como un contrarrestador de los radicales libres, y por lo tanto previniendo el daño oxidativo producido en las membranas mitocondriales. Los mecanismos aceptados por los que el CoQ₁₀ puede actuar como antioxidantes son tres:

- Una de las posibilidades se refiere al efecto de ordenamiento de los procesos físicos y químicos de las bicapas lipídicas, lo que podría prevenir la peroxidación lipídica y la propagación de la reacción en cadena³².
- Otra posibilidad es la referida a una conducta similar a la de los contrarrestadores de los radicales libres de bajo peso molecular, como los antioxidantes rompedores de la cadena (por ejemplo la vitamina E), los cuales son capaces de contrarrestar a los radicales peroxilo³².
- El último sería un mecanismo bioquímico que implica la posible inducción de la DT- diaforasa, un enzima que convierte a las quinonas en hidroquinonas, más que en semiquinonas previniendo la posterior autoxidación²⁷⁰.

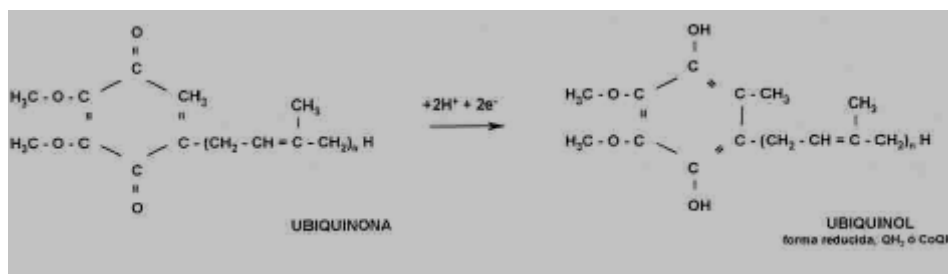


Figura 13: Ubiquinona o CoQ₁₀.

6.7.2.3. *Ácido ascórbico .*

El ácido ascórbico actúa como un potente agente reductor. Así reduce radicales libres derivados del oxígeno, del nitrógeno, y del sulfuro. Es un antioxidante soluble en agua que reacciona directamente con el radical superóxido, hidroxilo, y con el singlete de oxígeno. En combinación con Fe o Cu puede acelerar su formación a través de la reacción de Fenton.

Teniendo en cuenta su importante papel antioxidante, resulta paradójico que el ascorbato pueda generar de hecho, en ciertas condiciones los mismos radicales activos que en otras situaciones destruye ($O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 y HO^{\cdot}).

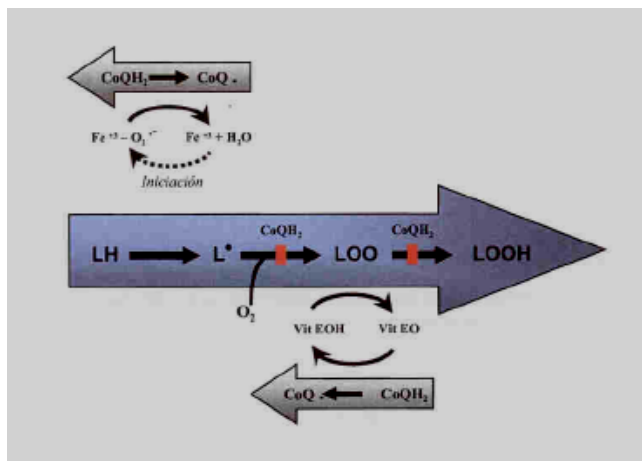


Figura 14. Mecanismos antioxidantes del Co Q.

6.7.2.4. Glutación .

El glutatión es un tripéptido con múltiples funciones que pueden agruparse en una doble vertiente de propiedades biológicas, ya que actúa tanto como regulador y mantenedor de los procesos bioquímicos y fisiológicos como en la defensa celular contra agresiones externas. Gran parte de estas funciones se deben a la presencia de grupos tiólicos reducidos, conferidos por la cisteína.

Entre sus múltiples funciones defensivas destaca su actuación sobre el coenzima de la GSH-S-transferasa⁴⁵ a través de cuyo mecanismo enzimático se lleva a cabo la mayor parte de las biotransformaciones de xenobióticos que tiene lugar en el hígado previa eliminación por vía biliar o renal. La GSH-S-transferasa es por lo tanto un importante mecanismo protector contra agresiones inducidas por drogas de distinta procedencia y naturaleza, si bien dicho proceso lleva consigo la disminución e incluso el agotamiento de los niveles hepáticos de glutatión reducido, comprometiendo seriamente la viabilidad del tejido.

6.7.2.5. Melatonina .

La 5-metoxi-N-acetil-triptamina o melatonina es una hormona presente en gran cantidad de organismos ontogénicamente muy variados entre sí. Es sintetizada por un gran número de estructuras tisulares⁴⁸², aunque en mamíferos la principal región productora de melatonina es la glándula pineal^{174 410}.

La biosíntesis de la melatonina, y en general, de otros metoxiindoles, viene determinada fundamentalmente por un impulso nervioso simpático que motiva un ritmo

circadiano sincronizado con el ciclo de la luz y que a su vez sufre diversas modificaciones por las hormonas circulantes mediante alteraciones del metabolismo pineal^{300 531}. Entre las sustancias reguladoras de la producción de

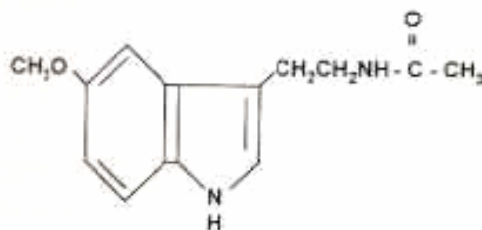


Figura 15: melatonina

aMT destacan entre otras la N-acetil-transferasa, así como por la Hidroxiindol-O-metiltransferasa, cuya función parece ser fundamentalmente la determinación de la velocidad de síntesis de la aMT, y la MonoAminoOxidasa (MAO).

Sus efectos reguladores de diversas funciones fisiológicas y de inmunomodulación son bien conocidos. Sin embargo, en los últimos años ha adquirido un interés creciente la consideración como una hormona con una importante misión antiestrés oxidativo, mediante la detoxificación de radicales libres, fundamentalmente radicales hidroxilo³⁰⁰. De hecho Hardeland plantea la posibilidad de que la producción circadiana de aMT se deba a esta función antioxidante¹⁹⁴. La capacidad de eliminación de radicales hidroxilo se debe a su estructura química; concretamente, estriba en el grupo metilo en posición 5 -OH del anillo indol, mientras que el grupo N-acetil ejerce una acción sinérgica¹⁷⁴.

Además del radical hidroxilo, se ha mostrado la acción antioxidante de la melatonina frente a otros radicales, concretamente los radicales peróxido^{381 445} y el singlete de oxígeno. Además actúa de forma sinérgica con otros conocidos antioxidantes, como las vitaminas C y E. Además, se propugna que esta hormona pueda estimular las enzimas antioxidantes SOD¹² y glutation peroxidasa³⁰.

En un estudio realizado por Okatani y sus colaboradores³⁶⁰ en el año 2000, demostraron que con la administración de melatonina a la mujer embarazada se aumentaba la actividad de las enzimas antioxidantes, lo que aportaba una protección indirecta ante el daño causado por los radicales libres. Concluyen incluso, que la melatonina podría utilizarse para el tratamiento de procesos neurodegenerativos causados por el exceso de producción de radicales libres como la hipoxia fetal y la preeclampsia.

La acción de la melatonina resulta facilitada por su capacidad de difusibilidad elevada debido a su carácter lipofílico, que posibilita que pueda atravesar cualquier barrera fisiológica, incluida la barrera hematoencefálica. La función antioxidante y de protección frente al estrés oxidativo de la melatonina, está siendo puesta de manifiesto en diversos trabajos publicados sobre todo en los últimos años y sobre diferentes patologías, como el editado por Ochoa et al realizado in vitro sobre la protección que

confiere frente a la peroxidación lipídica y la rigidez de membrana eritrocitaria en pacientes sometidos a cirugía cardíaca con circulación extracorpórea³⁵².

6.7.2.6. *Otros*.

No podemos terminar este repaso de los mecanismos antioxidantes sin citar la gran cantidad de compuestos que en los últimos años se están incorporando a la interminable lista de sustancias antioxidantes de interés biológico. La acción antioxidante de la mayoría de éstas se conoce por estudios *in vitro*, quedando aún por determinar su acción real *in vivo*. De entre las moléculas de naturaleza proteica no enzimáticas y de localización plasmática, se conocen: Cerulo-plasmina, Transferrina, Albúmina, Haptoglobina y Hemopexina. Existe otro grupo de pequeñas moléculas no enzimáticas y de pequeño peso molecular como el ácido úrico, bilirrubina, licopeno, luteína, zeoxantina, polifenoles, vitamina K, etc.

6.7.3. UTILIDAD CLÍNICA DE LOS ANTIOXIDANTES.

6.7.3.1. *Antioxidantes en el plasma.*

Un aumento de las tasa de antioxidantes se ha asociado con una disminución de la incidencia de ciertas enfermedades humanas como la arteriosclerosis y el cáncer, los radicales libres se suponen implicados en la etiología de estas enfermedades, por lo que es interesante investigar no solo su concentración plasmática sino a demás su mecanismo de acción protectora frente al daño oxidativo. Para ello se emplea el plasma humano, ya que en él se pueden encontrar sustancias potencialmente productoras de daño oxidativo y antioxidantes de forma fisiológica. Los niveles plasmáticos de antioxidantes están relacionados con la ingesta dietética.

Los antioxidantes del plasma se pueden clasificar en dos grupos, los solubles en la fase acuosa del plasma y los liposolubles asociados con lipoproteínas. Entre los primeros se encuentran el Ácido Ascórbico, la Vitamina C, el Ácido Úrico, las llamadas proteínas Tioles y la Bilirrubina, además, el plasma contiene niveles muy bajos de glutathion, que es el antioxidante más potente a nivel celular³²⁸. Entre los antioxidante liposolubles se encuentran el α - y γ -tocoferol, el Ubiquinol, el Licopene, β -carotenos, y otros carotenoides y oxicarotenoides.

Las concentraciones normales de cada uno de ellos son variables³²⁸, las de ácido ascórbico 160-450 μ M, las de ácido úrico de 30-150 μ M. Por su parte, la bilirrubina se encuentra en el plasma unida a la albúmina, tiene una actividad antioxidante biológica muy importante, y bajo condiciones fisiológicas relevantes puede neutralizar radicales peróxido con una alta eficiencia, sus concentraciones varían entre 5-20 μ M. La proteína asociada al grupo tiol en el plasma suele ser la albúmina, cuya concentración es muy alta y tiene una vida media de 20 días, la oxidación de los grupos tiol (su concentración es de 400-600 μ M) no tiene una consecuencia biológica importante. La concentración de los antioxidantes liposolubles en el plasma es mucho menor que la de los hidrosolubles, y son α - y γ - tocoferol 15-40 μ M, licopene 0.5-1.0 μ M, β -caroteno 0.3-0.6 μ M, y ubiquinol 0.4-1.0 μ M. La importancia de las concentraciones de antioxidantes en el plasma radica en la relación estudiada por numerosos autores entre la dieta, el estrés oxidativo y la enfermedad³²⁸.

6.7.3.2. Antioxidantes en el embarazo.

La utilidad de los antioxidantes en la prevención de las enfermedades, incluso en tratamientos dermatológicos antienviejecimiento, es un tema de actualidad incluso fuera de los ámbitos médicos.

A este respecto se pueden encontrar numerosos trabajos en la literatura en que se investiga el efecto de ciertos antioxidantes en animales de laboratorio al administrarlos artificialmente o en la dieta. Así, en 2001⁵⁵⁹ Zaken y sus colaboradores realizaron un estudio en embriones de rata, sometidos a medios de cultivo diabéticos. Demostraron que los factores metabólicos diabéticos tienen un efecto directo en el embrión de la rata, sobre el gen de la superóxido dismutasa y sobre otros genes de enzimas antioxidantes disminuyendo la defensa endógena del embrión frente al estrés oxidativo. Con la administración de vitaminas C y E se conseguía aumentar las defensas antioxidantes disminuyendo el daño oxidativo.

Numerosos estudios como el de Chelchowska et al¹⁰³, que en 2004 han investigado el efecto de la suplementación con vitaminas y minerales en los niveles de peroxidación lipídica y en la actividad de la glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa en sangre materna y de cordón umbilical demostrando disminuir el estrés oxidativo en el grupo intervención. Concretamente en este estudio la suplementación se llevó a cabo con un producto denominado VIBOVIT mama (Polfa Kutno S.A.).

Como ya se ha tratado anteriormente, la suplementación con melatonina a la mujer embarazada³⁶⁰ podría aumentar la actividad de las enzimas antioxidantes, lo que aportaba una protección indirecta ante el daño causado por los radicales libres, incluso, la melatonina podría utilizarse para el tratamiento de procesos neurodegenerativos causados por el exceso de producción de radicales libres como la hipoxia fetal y la preeclampsia según el grupo de autores que realizó el estudio.

También se han descrito trabajos como el publicado en Polonia en 2003 por Karowicz-Bilinska et al²³⁵ donde se evaluó la actividad antioxidativa total en embarazadas tratadas con L-arginina, y cuyo resultado fue que en el grupo intervención disminuía el riesgo de daño causado por estrés oxidativo.

Se ha investigado la posibilidad de suplementar a las gestantes fumadoras, entre otras, ya que se ha podido demostrar en estas pacientes (fumadoras de tabaco) y en sus recién nacidos una menor concentración de vitamina E plasmática y eritrocitaria¹⁰⁴, lo que podría sugerir que la suplementación con vitamina E en estas pacientes podría paliar los efectos del tabaco. Entre las pacientes con riesgo de desarrollar preeclampsia, por su parte, algunos autores españoles, en un estudio publicado en 2005 encontraron beneficios con la suplementación de vitaminas C y E⁴²³ en la profilaxis de dicha patología.

En un estudio desarrollado en ratas en 2006, Cambonie y sus colaboradores⁸⁶ demostraron que los antioxidantes prenatales pueden prevenir enfermedades como la HTA en el adulto, la disfunción vascular y la rarefacción microvascular asociadas a la exposición intraútero a una dieta hipoproteica, concluyen además que el estrés oxidativo perinatal puede producir alteraciones permanentes en el desarrollo cardiovascular.

6.8. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MEMBRANA ERITROCITARIA.

Las células mantienen su organización morfofuncional debido a que poseen una membrana que las limita y que previene la dispersión de sus componentes en el medio. Todas las células *eucariotas* y *procariotas* están delimitadas por una membrana. En los procariotas la estructura de las membranas está confinada solamente a la barrera externa que rodea las células, en cambio en las células de eucariotas esta estructura es también responsable de la compartimentalización interna (organelos membranosos). Las membranas biológicas contienen una gran diversidad de lípidos y de proteínas y, en menor cantidad hidratos de carbono.

Las membranas pueden ser simples, que son las que están compuestas principalmente por lípidos que funcionan principalmente como aislantes, con una pequeña actividad bioquímica, por ejemplo, la capa de mielina; y también pueden ser compuestas, las cuales están constituidas con alrededor del 50% de proteínas y presentan procesos enzimáticos, y actividades de transporte, por ejemplo: la membrana plasmática, y aquellas membranas que contienen como mayor componente proteínas, conteniendo sistemas enzimáticos complejos, que están involucrados en diversos procesos, ejemplo: membrana mitocondrial.

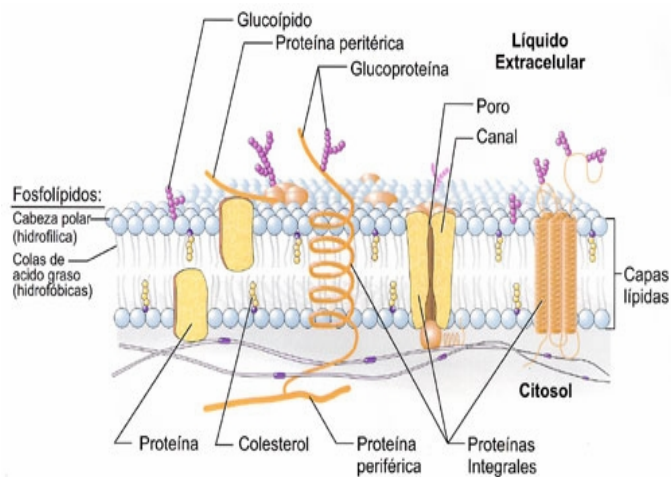


Figura 16: estructura de una membrana común.

En la composición química de la membrana entran a formar parte lípidos, proteínas y glúcidos en proporciones aproximadas de 40%, 50% y 10%, respectivamente. Los lípidos forman una doble capa y las proteínas se disponen de una forma irregular y simétrica entre ellos. Estos componentes presentan movilidad, lo que confiere a la membrana un elevado grado de fluidez. Por el aspecto y comportamiento el modelo de membrana se denomina "modelo de mosaico fluido"(figura 16).

Se trata de una bicapa lipídica no simétrica, en la que los polos hidrófobos de los lípidos están situados frente a frente y los hidrófilos en contacto con el hialoplasma

o con el medio extracelular. Las proteínas constituyentes se dividen en *estructurales* y *funcionales*. Las primeras se distribuyen en la bicapa del citoesqueleto y son las proteínas intrínsecas o hidrófobas; las segundas son principalmente componentes menores con actividad enzimática. También presenta cadenas lipopolisacáridas unidas a los péptidos; estos glucolípidos llevan en sus polos hidrófilos los lugares glucídicos antigénicos de los grupos sanguíneos⁴²⁴.

En cuanto a la membrana eritrocitaria, el hematíe, es una célula anucleada que además carece de orgánulos citoplasmáticos, constituye un “saco” cuya pared es la membrana plasmática y cuyo contenido es rico en hemoglobina. Su función es el transporte de oxígeno desde los pulmones a los tejidos y del dióxido de carbono en sentido contrario.

La estructura de la membrana eritrocitaria es la misma que la de cualquier membrana plasmática. Presenta tres capas de diferente densidad electrónica y su arquitectura molecular sigue el modelo del “mosaico fluido” propuesto por Singer SJ y Nicholson GM en 1972 (Figura 16).

La facilidad de obtención de estas membranas aisladas, junto a la posibilidad de obtener grandes cantidades de estas células, han hecho del eritrocito un elemento de excepcional interés para el estudio de la composición y funciones de membrana.

6.8.1. Proteínas.

6.8.1.1. Citoesqueleto del glóbulo rojo: Situado en la cara interna de la membrana eritrocitaria, el citoesqueleto está formado por un complejo número de proteínas cuya función no está bien definida, pero que son las responsables de mantener la forma del hematíe después de sufrir las múltiples deformaciones impuestas por la corriente sanguínea y el paso por la microcirculación. Se calcula que el citoesqueleto cubre del 50-70 % de la superficie de membrana. La estabilización de sus componentes tiene lugar por medio de enlaces no covalentes, así como por repulsión electrostática de las moléculas de espectrina cargadas negativamente.

6.8.1.2. Proteínas intrínsecas: Embebidas en la bicapa lipídica, se trata probablemente de glicoproteínas que, o bien atraviesan de parte a parte la membrana donde flotan, o bien están tan solo en una de las dos mitades de la bicapa¹⁸⁸. Su función es compleja proporcionando un canal para el transporte de aniones CO_3H^- y Cl^- , (esencial para el transporte de CO_2), glucosa y como proteínas de anclaje de enzimas citosólicos. Otro tipo de proteínas intrínsecas son las glicoforinas A y B, portadoras de algunos antígenos de grupos sanguíneos.

6.8.2. Lípidos.

Los lípidos constituyen el 40-50 % de los componentes de las membranas. Son de naturaleza anfipática y se disponen constituyendo una bicapa que es la matriz estructural de la membrana plasmática y para cuya estructura e integridad funcional son imprescindibles.

6.8.2.1. Colesterol no esterificado: Se puede decir que actúa como un componente moderador de biomembranas. Su aumento o disminución produce

alteraciones considerables en la organización de las moléculas lipídicas de la bicapa ya que la relación entre colesterol y fosfolípidos regula el mantenimiento de la fluidez de la bicapa, así como la permeabilidad, estabilidad y contorno de membrana necesarias para el normal funcionamiento de la célula²¹².

6.8.2.2. Glucolípidos: Constituyen una fracción minoritaria dentro de los lípidos de la membrana eritrocitaria y están todos situados en la monocapa externa. Junto con las glucoproteínas, que también tienen sus residuos de azúcar en la parte externa de la membrana, determinan las propiedades antigénicas de la célula.

6.8.2.3. Fosfolípidos: Los fosfolípidos tienen una estructura básica formada por glicerina con tres grupos de hidroxilos (-OH), dos de los cuales se esterifican con ácidos grasos (AG), y el tercero con ácido fosfórico. Según el grupo polar que reacciona con el ácido fosfórico vamos a obtener los distintos tipos de fosfolípidos.

Los más importantes cuantitativamente en la membrana eritrocitaria son: esfingomielinas (SM), fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE) y fosfatidilserina (PS), que constituyen el 95% del total de fosfolípidos⁴²⁴. Están distribuidos asimétricamente en las dos caras de la membrana; en la cara externa predominan PC y SM y en la cara interna PE y PS^{224 517}.

Los ácidos grasos naturales generalmente contienen entre 4 y 26 átomos de carbono por molécula. Se clasifican según el número de dobles enlaces en: *saturados* (sin dobles enlaces en la cadena de carbono), *monoinsaturados* (también denominados monoenoicos, con un doble enlace) o *poliinsaturados* (polienoicos). Por convención, los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados se identifican mediante tres características: 1) el número de átomos de carbono de la cadena, 2) el número de enlaces dobles y 3) la posición del primer doble enlace en relación con el extremo metilo de la molécula.

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI) son los componentes fundamentales de los lípidos estructurales de las membranas celulares, mitocondriales y nucleares, y tienen un papel vital para las propiedades de la mayoría de las membranas. Las principales funciones se pueden resumir en las siguientes:

- a) mantener la integridad de la membrana;
- b) mantener niveles óptimos de desaturación en los lípidos tisulares;
- c) mantener la barrera acuosa epidérmica;
- d) intervenir en la inmunidad;
- e) actuar como precursores de los eicosanoides;
- f) contribuir a la regulación del metabolismo del colesterol;
- g) intervenir específicamente en el crecimiento y en el desarrollo cerebral y retiniano.

Los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga de la matriz fosfolipídica de la membrana influyen sobre la viscosidad y fluidez de los sistemas y modifican la conformación, movilidad y funciones de las proteínas ligadas a la membrana. La integridad de la membrana depende de la fluidez, y la fluidez de los fosfolípidos depende de la longitud de cadena y grado de desaturación de sus ácidos grasos. Los cambios en la fluidez de membrana pueden producir alteraciones de la actividad de

enzimas ligadas a la membrana, como la adenil ciclasa, 5-nucleotidasa y Na /K ATPasa, y cambios en la expresión del receptor, señalización intercelular y capacidad de respuesta linfocítica.

Determinados ácidos grasos son esenciales (AGE) puesto que, siendo necesarios para procesos fisiológicos, no pueden ser sintetizados por algunas especies de mamíferos. Existen ciertas características estructurales de los ácidos grasos poliinsaturados que otorgan el carácter esencial.

La especie humana no puede sintetizar ácidos grasos que tengan dobles enlaces distales al átomo de carbono que ocupa la novena posición en su cadena a partir del grupo carboxilo (presencia de insaturaciones entre C9-10 y C12-13). Por ello, el ácido linoleico (C18:2n-6) y el ácido alfa-linolénico (C18:2n-3), componentes básicos de las dos series de ácidos grasos poliinsaturados, son ácidos grasos esenciales que deben ingerirse en la dieta.

Los mecanismos de desaturación - elongación de los ácidos grasos esenciales producen derivados también esenciales que mantienen la posición de los dobles enlaces. A los distintos grupos formados por un ácido graso “padre” y sus derivados se les conoce como familias. Las familias más importantes en fisiología humana son la n-9 (derivada del ácido oleico), n-6 (derivada del ácido linoleico), y n-3 (derivada del ácido linolénico).

Los ácidos grasos esenciales de la dieta, sobre todo los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga, pueden modificar la inserción, agregación y movimientos de difusión de los componentes de la membrana, permeabilidad de la membrana, propiedades de transporte y actividad y afinidad de los receptores.

Los ácidos docosahexaenoico (DHA), araquidónico (AA) y ácido eicosapentaenoico (EPA) son los precursores de los eicosanoides, que se forman por la acción de la ciclooxigenasa ligada a la membrana o de un sistema enzimático lipooxigenasa específico. Están constituidos por las prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina, leucotrienos, lipoxinas y otros ácidos grasos hidroxilados. Son potentes reguladores de diferentes funciones celulares en el tejido epitelial, macrófagos, aparato reproductor y plaquetas.

La deficiencia de ácidos grasos esenciales aumenta la susceptibilidad a infecciones, y esto puede ser una consecuencia de los cambios estructurales de las membranas de las células linfoides, o puede estar producido por mediadores químicos como los eicosanoides. Un desequilibrio en la relación n-6/n-3 ingerida, con un exceso de n-3 puede producir trastornos en la inmunidad.

En cuanto a la importancia de la grasa en el desarrollo cerebral, hay que resaltar la alta proporción de los ácidos docosahexaenoico (C22:6n-3) y araquidónico (C20:4n-6) en el cerebro en desarrollo¹¹⁶. El grupo de trabajo de *Ballabriga A (1978)*²⁷ y *Martínez M (1988)*⁶⁷ en Barcelona han publicado en numerosas ocasiones estudios detallados en cuanto a la composición del cerebro y cerebelo en recién nacidos prematuros en los que encuentra un aumento significativo en el índice de elongación del ácido araquidónico durante el tercer trimestre de la gestación, indicando que la

maduración cerebral se acelera en esta época en la que hay una rápida formación de sinapsis y espinas dendríticas.

Dentro del sistema nervioso central, la retina muestra niveles altos de ácidos grasos de la familia n-3, sobre todo ácido docosahexaenoico (DHA), que es captado preferentemente por la retina en desarrollo. Su concentración en los segmentos externos de los bastones retinianos se ha asociado a los movimientos de la rodopsina en el proceso fotorreceptor. Un escaso aporte de ácido linolénico, precursor de la serie n-3 en monos realizados por Neuringer M (1988) demuestra que el C22:6n-3 es esencial para la función visual³⁴⁶. Los niños a término sanos alimentados con leche materna tienen mejor agudeza de potencial visual evocado y niveles de DHA más altos que los niños que reciben fórmula adaptada, y existe una correlación positiva entre el DHA de los hematíes y la agudeza de potencial visual evocado⁹.

El aspecto destacable en la biosíntesis de las series n-6 y n-3 es la interrelación existente entre sus dos vías metabólicas: las enzimas que participan en las distintas etapas son las mismas y existe un efecto de *inhibición competitiva*. No obstante las desaturasas 4 y 6 presentan mayor afinidad por los sustratos n-3.

Por tanto es muy importante mantener una proporción correcta entre ácido linoleico y linolénico, ya que el exceso del primero en la dieta, puede desplazar la preferencia que el sistema desaturasa tiene por el ácido linolénico y así producir una deficiencia en los derivados de éste, con importantes repercusiones sobre la visión si ocurre en las primeras etapas de la vida. La ESPGAN recomienda que dicho cociente sea alrededor de 10.

Respecto a la composición de los ácidos grasos (AG) que forman parte de los fosfolípidos en la membrana eritrocitaria del recién nacido se conocen pocos datos. Los lípidos eritrocitarios, por ser su naturaleza dependiente de los plasmáticos, y la de éstos a su vez de la composición de la dieta, constituyen en última instancia, un fiel reflejo del tipo de alimentación.

La manipulación nutricional de las membranas celulares se realiza a través del aporte graso de la dieta. La composición lipídica de las membranas celulares de los recién nacidos está autorregulada por la transferencia placentaria de ácidos grasos^{171 433}, y es dependiente de la dieta materna en el momento del nacimiento y en el periodo neonatal inmediato, de la ingesta del cuerpo graso de la leche materna o artificial³⁸⁷.

Está demostrado que el consumo habitual de una fuente grasa, comporta una adaptación de las membranas celulares, en el sentido de un incremento en las mismas del ácido graso predominante en la fuente grasa: ácido oleico, linoleico y linolénico para las respectivas fuentes grasas monoinsaturadas (aceite de oliva), derivadas de semillas (aceite de girasol y de maíz) y de pescado azul, respectivamente.

Los cambios citados en el perfil lipídico de las membranas son máximos en elementos formes sanguíneos y hepatocitos, y menores en corazón y tejido nervioso. Dichos cambios conllevan importantes modificaciones estructurales y posiblemente funcionales de las mismas, con repercusión en distintos procesos, tanto fisiológicos como patológicos^{208 209}. Es de esperar que la peroxidación sea mayor en los sistemas

altamente insaturados, contribuyendo de forma significativa a las reacciones de propagación y multiplicación de radicales libres^{453 454}.

En los recién nacidos, el patrón de ácidos grasos eritrocitarios cambia considerablemente en los primeros días de vida. El ácido linoleico presenta unos niveles muy bajos en el nacimiento tanto en eritrocito como en plasma, aumentando a lo largo del primer mes de vida, mientras que los ácidos araquidónico y docosahexaenoico especialmente abundantes al nacer van disminuyendo. En general los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (20-22 átomos de carbono) van a ser constituyentes importantes de la estructura y función de la membrana.

En conjunto los ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-6 son superiores en el neonato a los de la serie n-3.

Una vez instaurada la lactancia es cuando se producen las variaciones en los niveles de ácidos grasos. En la lactancia materna se ha observado que los eritrocitos presentan mayor contenido de ácidos grasos poliinsaturados de las series n-6 y n-3 que en la lactancia artificial³⁸⁶, por lo que es preciso suplementar las fórmulas artificiales con estos ácidos grasos de cadena larga.

6.8.3. Actividad antioxidante en el eritrocito.

6.8.3.1. Ontogenia de enzimas antioxidantes en el eritrocito.

Las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa están asociadas con un modelo biológico de baja presión de oxígeno (eritrocitos de sangre de cordón de recién nacidos).

Numerosos autores han estudiado los enzimas antioxidantes en los eritrocitos, llegando a la conclusión de que la actividad de la catalasa y la glutatión peroxidasa en los eritrocitos de los recién nacidos es mucho menor a la de los adultos e incluso a la de sus madres. Por el contrario, la actividad de la superóxido dismutasa no presenta diferencias con respecto al adulto, esto se puede explicar según Agostoni y sus colaboradores⁴ por que es necesario para proteger a los eritrocitos de los radicales superóxido durante la vida fetal, mientras que las bajas actividades de la catalasa y de la glutatión peroxidasa, son suficientes para proteger a los eritrocitos del peróxido de hidrógeno. Por el contrario, Novak³⁴⁹ en un estudio realizado en 1990 en 50 recién nacidos y en sus madres, demostró que la actividad antioxidante y la peroxidación lipídica era mayor en el sangre de cordón que en la materna, (a excepción de la catalasa).

La concentración de las diferentes enzimas antioxidantes puede variar en función de numerosas causas, por ejemplo, se ha demostrado que en la placenta se pueden encontrar diferentes concentraciones de enzimas antioxidantes²²⁷ en función del lugar del que tomemos la muestra (ya sea preumbilical, de la periferia, o de las membranas).

También se ha estudiado si factores como la prematuridad pueden alterar la defensa antioxidante. La evolución de los procesos oxidativos metabólicos entre las células de los mamíferos necesita el desarrollo de mecanismos que protejan los

componentes celulares vitales del daño producido por los radicales libres del oxígeno durante el metabolismo. Los mecanismos de defensa primarios más importantes son la vitamina E (entre los no enzimáticos), la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutathion peroxidasa dependiente de selenio (entre los enzimáticos).

Los mecanismos de defensa antioxidantes se han considerado menos activos durante el desarrollo fetal que en el recién nacido maduro o en el adulto^{21 484 485}, esto se podría atribuir al hecho de que el feto intraútero precisa de una menor protección antioxidativa, dado que no está expuesto al medio ambiente, y su baja concentración de oxígeno. Se ha considerado que una inadecuada protección antioxidante es el primer factor en el status oxidativo de estados patológicos como la displasia broncopulmonar y la retinopatía en prematuros y aumenta la susceptibilidad a la hemólisis tanto en pretérminos como en recién nacidos a término^{181 461 523}, pero sobre este punto volveremos más adelante.

Algunos autores, en cambio, han demostrado que los mecanismos de defensa antioxidante en los eritrocitos fetales humanos tienen un patrón de desarrollo específico que es diferente a los encontrados en los tejidos de otros animales. Ripalda et al⁴¹⁷ en 1989 estudió a 65 recién nacidos entre 520 y 4210 gr. de peso, concluyendo que la mayoría de las variaciones que se observan tienen lugar entre las 31 y 34 semanas de gestación (aproximadamente entre 1500-2000 gr.), lo que probablemente indique que el estímulo para este cambio ocurra entre las semanas 28-30. No pudo demostrar un cambio significativo en el desarrollo de la superóxido dismutasa eritrocitaria entre los diferentes grupos de neonatos, ni siquiera entre los de bajo peso o prematuros, con los niños nacidos a término ni incluso con los adultos. Por otra parte, sí encontró una correlación significativa del aumento del peso y de la edad gestacional con la actividad de la catalasa eritrocitaria (que tenía un pico significativo sólo al final de la gestación), con la actividad de la glutathion peroxidasa y con los niveles plasmáticos de vitamina E, por otra parte, la glutathion S-transferasa mostró una correlación negativa con el aumento de peso al nacimiento. Demostró un aumento del desarrollo de la glutathion peroxidasa detectable sólo tras las 32-35 semanas de gestación, sin encontrar cambios significativos en la actividad de éstas enzimas en los eritrocitos fetales obtenidos mediante fetoscopia a las 17-24 semanas de edad gestacional.

Luego los cambios madurativos en los factores antioxidantes podrían ocurrir entre las semanas 31 y 34, y podría deberse a que se comienza a preparar una adaptación para el ambiente hiperóxico que el feto se encontrará al nacimiento. Sin embargo, la presencia de una actividad adecuada de superóxido dismutasa eritrocitaria entre las semanas 25 y 28 de gestación discrepa con los niveles relativamente bajos de catalasa, glutathion peroxidasa y vitamina E en este periodo gestacional. Esto sugiere que la actividad de las enzimas antioxidantes fetales no está determinada únicamente por la presión parcial de oxígeno intraútero.

Muchos autores han estudiado la ontogenia de las enzimas antioxidantes⁵⁶¹, y han demostrado actividades de la superóxido dismutasa eritrocitaria similares a las de los adultos a las 17 semanas de gestación, mientras que la actividad de la glutathion peroxidasa eritrocitaria fetal entre las 17 y las 25 semanas de gestación fue similar a la hallada en el cordón umbilical del feto a término, pero significativamente más baja que la de los controles adultos sanos, no se igualaban estas cifras hasta las 26-35 semanas de edad gestacional. En la tabla 8 se pueden apreciar los resultados de este estudio en el

que los resultados obtenidos se expresan en la media \pm la desviación estándar, los resultados alcanzan la significación estadística. Pero otros autores²¹⁰ han demostrado *in vivo* que la actividad de la superóxido dismutasa es menor en los niños nacidos prematuros que en los postérmino.

Grupo	N	Superóxido dismutasa (U/g Hb)	Glutacion peroxidasa (U/g Hb)
Sangre fetal (17-25 semanas)	7	2628 \pm 149	14.4 \pm 2.0
Sangre fetal (26-35 semanas)	5	3273 \pm 308	21.4 \pm 3.4
Cordón umbilical de recién nacido	16	2432 \pm 107	16.8 \pm 1.6
Donantes de sangre sanos	23	2643 \pm 115	21.9 \pm 0.7

Tabla 8: Actividad eritrocitaria de superóxido dismutasa y glutacion peroxidasa⁵⁶¹

Otros autores³⁵² han investigado la actividad de enzimas antioxidantes en prematuros, encontrando una menor actividad de la superóxido dismutasa en este grupo, como se refleja en la tabla 9, y puede deberse a un inadecuado mecanismo de soporte de la actividad enzimática por un déficit nutricional de zinc o de cobre³⁷⁹.

	Grupo postérmino			Grupo prematuro		
	Nacimiento	3 horas	72 horas	Nacimiento	3 horas	72 horas
Catalasa (K(s ⁻¹ /mg proteínas)	0.38 \pm 0.09	0.36 \pm 0.09	0.23 \pm 0.04	0.37 \pm 0.07	0.22 \pm 0.01	0.27 \pm 0.04
Superóxido dismutasa (U/mg Proteínas)	10.79 \pm 1.59	10.13 \pm 1.34	9.45 \pm 0.97	5.22 \pm 0.77	3.77 \pm 0.40	4.03 \pm 0.45
Glutación peroxidasa citosólica (U/mg proteínas)	45.45 \pm 5.95	38.61 \pm 3.90	43.84 \pm 5.35	45.76 \pm 8.00	28.85 \pm 2.85	28.54 \pm 3.21

Tabla 9: Actividad de las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y glutación peroxidasa citosólica en los eritrocitos de niños postérmino y prematuros. Los valores están expresados en la media \pm la desviación estándar de la media.³⁵²

El repentino incremento en la concentración de oxígeno alveolar (cinco veces su valor intraútero) y en la presión de oxígeno que se produce tras el nacimiento aumenta la formación de especies reactivas del oxígeno en el pulmón entre otros órganos. Los radicales libres de oxígeno tienen un rol mediador en el daño tisular en la hiperoxia y la repercusión tras la isquemia, en procesos inflamatorios, y tras un shock circulatorio²³. Cuando la capacidad antioxidante del neonato es inadecuada para oponerse al aumento de formación de especies reactivas del oxígeno tras el nacimiento, el resultado es un daño celular por estrés oxidativo.

Si asumimos que la glutatión S-transferasa eritrocitaria tiene las mismas propiedades en el neonato que en el adulto, se puede esperar su vulnerabilidad ante el estrés oxidativo, cuyo pico más importante tiene lugar al nacimiento, disminuyendo la actividad de la enzima, y se puede observar una vulnerabilidad similar al estrés oxidativo entre los dos tipos, cuando son tratados *in vitro* con peróxido de hidrógeno³³⁸. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la magnitud de este efecto entre los recién nacidos a término, los prematuros o los adultos. En los prematuros, la actividad de la glutatión S-transferasa eritrocitaria está correlacionada negativamente con el aumento de la edad gestacional⁴¹⁷. Se puede observar que la inactivación de la glutatión S-transferasa en los eritrocitos puede ser un indicador de estrés oxidativo en los neonatos, pero las concentraciones de peróxido de hidrógeno usadas *in vitro* son relativamente altas en comparación con lo que ocurre *in vivo*, que además queda inactivado rápidamente por la acción de la glutatión peroxidasa.

La determinación en los cambios de la actividad de la glutatión S-transferasa eritrocitaria podría ser un indicador de condiciones de estrés oxidativo que aconteciesen en el momento del nacimiento, y podría utilizarse para la evaluación de tratamientos profilácticos en ensayos sobre estrategias antioxidantes³³⁸.

Los problemas más frecuentes de un prematuro suelen ser la retinopatía, la hemorragia intraventricular y la enfermedad pulmonar crónica, que, como se ha apuntado anteriormente, se puede deber a una excesiva producción de radicales libres del oxígeno como consecuencia de la oxigenoterapia. Los problemas de salud de los prematuros aumentan dramáticamente a medida que disminuye la edad gestacional alcanzada y el peso en el momento del nacimiento³⁵². Si un parto de un feto a término y sano supone un gran estrés oxidativo, el de un feto preterminal supone un mayor daño oxidativo debido a sus mecanismos de defensa antioxidativos inmaduros, y a su déficit de antioxidantes como el α -tocoferol, el ácido ascórbico o el retinol, que le aporta la madre en el último periodo de la gestación²¹⁰, además el recién nacido prematuro tendrá problemas relacionados con la absorción de nutrientes por la inmadurez de su sistema digestivo.

Los niveles de hidropéroxidos que se han cuantificado en las membranas eritrocitarias de recién nacidos postérmino y pretérmino, en un estudio realizado en 1998 en Granada, encontrando que los valores de éstos eran mayores en los neonatos que en los adultos expuestos a un fuerte estrés oxidativo, lo que demuestra que el nacimiento supone un importante estrés, y que a su vez es mucho mayor en recién nacidos prematuros que en los postérmino²¹⁰, dichas concentraciones se mantenían desde las 72 horas tras el nacimiento hasta el séptimo día de vida, bien por la oxigenoterapia, bien por la inmadurez del recién nacido. Y, lógicamente, la tendencia observada en las concentraciones de α -tocoferol en la membrana eritrocitaria fue completamente opuesta a la de los hidropéroxidos, siendo las concentraciones de los tocoferoles en los prematuros mucho menores que en los postérmino. En cuanto a las concentraciones de coenzima Q₁₀ en las membranas eritrocitarias fue máxima en el momento del nacimiento y disminuyó de forma significativa a las 72 horas de vida. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto a la actividad de enzimas citosólicas como la catalasa y la glutatión peroxidasa.

También se ha evaluado la correlación entre la peroxidación lipídica y la respuesta del sistema de defensa antioxidante eritrocitario de niños postérmino y

prematuros (no sometidos a reanimación intensiva o a oxigenoterapia³⁵² a las 3 y a las 72 horas de vida. El perfil lipídico podría ser un marcador de la susceptibilidad de las membranas biológicas a la lipoperoxidación, como afirmó Ochoa et al en 2003, que realizó un estudio sobre estrés oxidativo en prematuros y niños postérmino, donde encontró una concentración similar en los ácidos grasos poliinsaturados totales, y con algunas diferencias entre los grupos en PUFA n3 y n6, con consecuencias menores en términos de peroxidación lipídica, pero que podría ser crucial para un correcto desarrollo del neonato. La mayordiferencia se encontró en los niveles de ácidos grasos poliinsaturados n3 a las 72 horas de vida en prematuros, que fueron mucho menores a los niveles alcanzados en los niños postérmino (tabla 10). Este tipo de ácidos grasos tienen un papel esencial en el desarrollo del niño

	<i>Grupo postérmino</i>			<i>Grupo pretérmino</i>		
	<i>Nacimiento</i>	<i>3 horas</i>	<i>72 horas</i>	<i>Nacimiento</i>	<i>3 horas</i>	<i>72 horas</i>
<i>Ácidos grasos saturados</i>	50.5±0.9	49.2±0.9	49.1±0.8	47.5±0.3	45.9±1.5	47.2±0.7
<i>Ácidos grasos monoinsaturados</i>	16.1±0.5	16.8±0.2	17.9±0.5	18.6±0.5	19.3±1.5	19.1±0.7
<i>Ácidos grasos poliinsaturados</i>	35.2±1.5	34.9±1.9	34.2±1.1	34.5±0.4	32.2±2.2	34.2±0.9
<i>Ácidos grasos poliinsaturados n-6</i>	23.9±1.3	22.9±1.2	22.9±1.7	28.7±0.9	25.5±2.6	25.3±1.6
<i>Ácidos grasos poliinsaturados n-3.</i>	11.8±1.4	12.1±1.3	11.5±0.9	5.3±0.4	5.1±0.5	4.7±0.2

Tabla 10: índices de ácidos grasos de la membrana del eritrocito de niños prematuros y postérmino valores expresados en la media ± desviación estándar de la media³⁵²

El contenido de hidroperóxidos eritrocitarios mostró una menor peroxidación lipídica en los prematuros, al igual que concentraciones menores de antioxidantes de membrana como α -tocoferol, lo que podría ser una consecuencia del escaso aporte por parte de la madre. No encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a otros antioxidantes liposolubles.

6.8.3.2. *Relación entre antioxidantes eritrocitarios y bilirrubina.*

Por otra parte, se ha investigado la posible relación entre enzimas antioxidantes y la concentración de bilirrubina en los primeros días de vida, Agostoni y sus colaboradores⁴ no encontraron una correlación entre la actividad de las enzimas antioxidantes en sangre del recién nacido y la concentración de bilirrubina en los primeros días de vida.

Por el contrario, en un estudio realizado en 1988⁶¹ en 152 neonatos en los que se realizó una determinación de las enzimas antioxidantes del eritrocito, y de la actividad glucolítica del mismo (glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, piruvato-kinasa y catalasa), se encontraron, al cuarto día de vida, en los recién nacidos con picos de bilirrubina mayores de 214 μ Mol/l, unos niveles significativamente más bajos de glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa que en los niños con niveles más bajos de bilirrubina. Por otra parte, la actividad de las enzimas glicolíticas fue significativamente mayor en los niños con mayor pico de bilirrubina al cuarto día de vida. Concluye que

probablemente la deficiencia en los factores protectores frente a la toxicidad del oxígeno tenga un papel importante en el desarrollo de la enfermedad hemolítica y la ictericia y en el recién nacido⁶¹.

6.8.3.3. *Enzimas antioxidantes eritrocitarias y cromosopatías.*

También se han encontrado alteraciones en las enzimas antioxidantes eritrocitarias en enfermedades cromosómicas como en el Síndrome de Down¹⁵⁶, donde se encontró un aumento significativo de la superóxido dismutasa tipo 1 y de la glutatión peroxidasa presente en eritrocitos y en células linfoides (en éstas últimas sin ningún efecto aparente), junto con un aumento de la actividad de la fosfofructokinasa. Este aumento en las concentraciones de glutatión peroxidasa podría deberse a una respuesta metabólica adaptativa al aumento de peróxido de hidrógeno que se produce en la Trisomía 21 a causa del aumento de la superóxido dismutasa¹⁵⁶.

6.8.3.4. *Enzimas antioxidantes eritrocitarias y patología materna.*

Los eritrocitos pueden ser un indicador de estrés oxidativo en ciertas patologías maternas como por ejemplo en la diabetes gestacional, donde la peroxidación lipídica y la oxidación de las proteínas en eritrocitos maternos y fetales, puede ser un indicador de la actividad de los radicales libres del oxígeno²³², y se evidencia un aumento en la concentración de malondialdehído en los eritrocitos de los recién nacidos de las pacientes con diabetes gestacional. La concentración de malondialdehído materna, por su parte, se correlaciona de forma significativa con los niveles de hemoglobina glicosilada.

El estrés oxidativo inducido por diabetes gestacional se manifiesta con un aumento de la peroxidación lipídica y con un daño oxidativo en las proteínas de los eritrocitos en mujeres con diabetes gestacional y en sus hijos²³².

También podría estar relacionado con las enfermedades hipertensivas, por ejemplo con la hipertensión inducida por el embarazo. En un estudio desarrollado en Polonia en 1995 se concluye que las alteraciones en el sistema antioxidante tienen influencia en la patogénesis de la hipertensión inducida por el embarazo, y eso tiene una influencia en el status oxidativo del feto²²⁸. Se llegó a esta conclusión al encontrar una menor actividad de la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa en las pacientes con hipertensión inducida por el embarazo, y en el cordón umbilical de sus hijos una mayor concentración de peróxidos lipídicos y una menor actividad de la glutatión peroxidasa que en los controles.

6.9. *IMPLICACIONES DE LOS RADICALES LIBRES DEL OXÍGENO EN EL EMBARAZO, EL PARTO Y EL NEONATO.*

6.9.1. EMBARAZO Y PARTO.

El malondialdehído es uno de los productos de la peroxidación lipídica, comúnmente usado como indicador de estrés oxidativo, pero no puede reflejar el balance entre antioxidantes y prooxidantes, además tiene mucho más valor predecir la resistencia de los lípidos plasmáticos a la oxidación que cuantificar mediante el

malondialdehído el estrés oxidativo¹⁴⁷. No olvidar que la mayoría de los estudios están realizados *in vitro*, y que el malondialdehído sólo es uno de los productos de la peroxidación *in vivo*.

La susceptibilidad de los lípidos plasmáticos (LOOH) a la peroxidación en presencia de iones de cobre depende de muchos factores, entre otros del citado balance entre antioxidantes y prooxidantes, resultando en la formación de radicales libres (OH·), que a su vez producirán hidroperóxidos lipídicos (LOO·), que se pueden investigar mediante espectrofotometría dado que absorben la luz con una longitud de onda de 245nm⁴⁴⁹⁻⁴⁵¹.

Se ha estudiado si el tipo de parto tiene alguna influencia en los parámetros de estrés oxidativo en la circulación fetal, determinando la peroxidación *in vitro* inducida por cobre, mediante la determinación de malondialdehído en el plasma fetal, en algunos estudios se encontró una mayor concentración de malondialdehído en los recién nacidos producto de un parto eutócico que en los nacidos mediante cesárea, concluyendo que la cesárea electiva tiene mejores resultados en lo que a estrés oxidativo se refiere^{425 457 544}. Pero no todos los estudios coinciden con estos resultados, concluyendo que los niveles de malondialdehído, y por tanto, el estrés oxidativo, es similar entre los niños nacidos mediante parto eutócico y los nacidos mediante cesárea¹⁴⁷.

Además se han encontrado diferencias en cuanto a la resistencia a la oxidación de los lípidos plasmáticos de vena y arteria umbilical, siendo mayor en la primera, esto no se puede explicar con unos perfiles lipídicos diferentes, ya que se ha demostrado que no existe tal diferencia¹⁴⁷, y podría señalar a un importante estrés oxidativo en el feto independientemente del tipo de parto.

También se ha llegado a la conclusión de que los niños nacidos por cesárea sufren un menor estrés oxidativo que los nacidos espontáneamente³⁴, con la determinación de vitamina E en sangre de cordón umbilical, y con unas concentraciones un poco más bajas de malondialdehído en estos niños, pero que pueden llegar a alcanzar la significación estadística, pero no tienen significación clínica, ya que esta diferencia es demasiado pequeña en comparación con la observada entre arteria y vena umbilical¹⁴⁷.

Se ha encontrado una correlación entre el pH sanguíneo y los niveles de estrés oxidativo^{147 239}, así como entre presión de CO₂ y O₂, y el exceso de bases¹⁴⁷.

Son varias las patologías del embarazo en las que se ha demostrado la participación de los radicales libres destacando la preeclampsia y eclampsia, y las infecciones maternas como desencadenantes del parto prematuro.

El desequilibrio entre factores reguladores del tono vascular en la mujer gestante, es responsable en parte de la preeclampsia, enfermedad específica de la gestación humana, caracterizada por la triada clínica de hipertensión, proteinuria y edema, que aparece en la segunda mitad del embarazo.

En ella se produce una disfunción endotelial diseminada, con el resultado hemodinámico para la mujer de una volemia baja con una resistencia alta, lo contrario de lo que ocurre en una gestación normal¹⁵⁴. Esta situación acarrea consecuencias importantes para el feto (bajo peso, parto prematuro). Se ha descrito también en esta

entidad una reducción de los niveles de inhibición del factor de activación plaquetaria (PAF), un mediador de la inflamación que ya ha sido descrito como un potente activador de las plaquetas conduciendo por un lado a un aumento del tono vascular y por otro a una agregación y degranulación plaquetaria^{42 496}.

Trastornos parecidos se han encontrado en los casos de crecimiento intrauterino retardado (CIR). En esta patología se ha demostrado también la participación de múltiples mediadores bioquímicos (prostaciclina y tromboxano, endotelina, óxido nítrico...) que alteran la perfusión útero-placentaria³³⁹.

Existen muchas isoformas de la superóxido dismutasa, ya sean citosólicas (dependientes de cobre o zinc) o bien mitocondriales (dependientes del manganeso). Su función en la placenta humana es evitar la acumulación excesiva de superóxidos y el potencial daño oxidativo. Dentro de la placenta, se pueden localizar dos isoformas de la superóxido dismutasa con distribuciones celulares diferentes, lo que lleva a la conclusión de que tienen funciones también diferentes³³⁰. La isoforma dependiente de manganeso se encuentra localizada en el endotelio vascular fetal, y muy escasamente en el sincitiotrofoblasto y el estroma de las vellosidades, podría estar encargada de evitar el daño a este nivel, y en controlar la vida media del óxido nítrico derivado del endotelio, que a su vez, al interactuar con el anión superóxido, forma el anión peroxinitrito. En las gestantes normotensas, se encuentran niveles muy bajos o inexistentes de estos residuos de nitrotiroxina, lo que indica que se ha formado muy poco peroxinitrito, y que la superóxido dismutasa actúa correctamente. Por el contrario, estos residuos estarán aumentados en la preeclampsia y en los fetos con crecimiento intraútero restringido³³¹.

La explicación a este fenómeno es relativamente simple, y no está relacionada con la superóxido dismutasa dependiente del manganeso, sino con el óxido nítrico, ya que es un vasodilatador potente, en estos fetos se encuentra aumentada la expresión endotelial de la óxido nítrico sintasa, para contrarrestar el déficit de flujo sanguíneo que llega al feto, lo cual deriva en un aumento de la formación de óxido nítrico, que facilita la producción de peroxinitritos³²⁹.

Las isoformas de la superóxido dismutasa dependientes del cobre y del zinc se encuentran en el estroma de las vellosidades, su misión es protegerlas de los efectos deletéreos del estrés oxidativo, no se encuentran ni en sincitiotrofoblasto ni en las vellosidades placentarias. Estas localizaciones se pueden ver modificadas en gestaciones complicadas como en la preeclampsia, o el crecimiento intraútero retardado, entonces aparecerán con altas concentraciones en el sincitiotrofoblasto y en el estroma vellositario³³⁰.

En el parto prematuro se encuentra implicada muchas veces una infección ya sea extra o intrauterina. La presencia de una infección intrauterina, subclínica o clínica, se ha demostrado tras estudio histológico de la placenta y membranas. El papel, entre otros gérmenes, de *Ureaplasma urealyticum* está publicado en numerosos trabajos^{137 426}. La infección desencadena la producción de metabolitos del ácido araquidónico, y otros mediadores inflamatorios como factor de necrosis tumoral (TNF) por parte de los macrófagos¹⁷⁰, acarreamo un aumento de productos prooxidantes.

En cuanto a los mecanismos que desencadenan el parto no se conocen aún en su totalidad. Hay diversos estudios que demuestran la participación del cortisol y las

prostaglandinas en dicho evento. En el hipotálamo del feto a término se incrementa la secreción de hormona liberadora de corticotropina, que a su vez estimula la producción de ACTH y como último eslabón cortisol por las glándulas suprarrenales fetales⁹⁴. Este aumento de cortisol en estudios experimentales con ovejas origina la activación de la vía terminal común del parto¹³⁰.

Se ha considerado desde hace muchos años que las prostaglandinas son los mediadores clave para el inicio del trabajo de parto, porque pueden inducir contractilidad miometrial, y de echo esto se conoce desde hace mucho tiempo^{344 470}, cambios del metabolismo de la matriz extracelular relacionados con la maduración cervical⁸⁵ y activación de la decidua y membranas⁴⁸. Si bien los datos de los que disponemos actualmente no prueban que las prostaglandinas sean los únicos mediadores para el inicio del trabajo de parto, apoyan el concepto de que existe un vínculo temporal correcto entre un incremento de las prostaglandinas y el inicio subsecuente de aquél.

Las PG se producen en tejidos intrauterinos (amnios, corion, decidua, miometrio y placenta). Los estímulos que generan su aumento incluyen las citocinas¹²⁶, factores de crecimiento (factor del crecimiento endodérmico)⁴²⁷, cortisol y otros.

Una vez instaurada la dinámica uterina ocurren de forma periódica periodos de isquemia-reperusión al compás de las contracciones uterinas con la siguiente formación de metabolitos de las xantinas y formación de radicales libres (figura 8).

6.9.1.1. Transferencia de gases entre feto y placenta.

En el momento del nacimiento, tras millones de años de evolución en el hombre, es de esperar que el feto humano normal esté preparado para soportar un trabajo de parto y un parto normales, dando por resultado un binomio de madre-hijo saludable en casi todas las situaciones. Para ello, es necesario que todos los factores implicados se desarrollen con normalidad: estado de salud y nutritivo de la madre, funcionamiento de la unidad feto-placentaria y trabajo de parto. Existen procesos biológicos que permiten que la variabilidad de la gestación y el proceso del trabajo de parto procedan de una manera normal. Estos procesos están basados en la fisiología del transporte de gases a través de la placenta, basados en una interfase sangre-sangre a nivel del espacio intervilloso⁴⁰³.

La transferencia de O₂ de la madre al feto depende de la transferencia de O₂ desde la hemoglobina materna hacia la fetal, que a su vez está determinada por la magnitud de la diferencia de afinidad entre los valores de presión con saturación media de oxígeno (p-50) de las hemoglobinas materna y fetal (p-50). Las desviaciones de las curvas de disociación de hemoglobina entre sí afectan la p-50, y por tanto la cantidad de oxígeno dispuesto para su transporte.

La p-50 normal in vivo (de aproximadamente 6 mm Hg) se origina por diferencias del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) activo en los eritrocitos maternos y fetales. Las cifras bajas de 2,3-DPG que se encuentran en los eritrocitos fetales dan por resultado un incremento de la afinidad de la hemoglobina fetal por el O₂. Esta afinidad aumentada mueve con eficacia la curva de disociación de hemoglobina fetal hacia la izquierda de la madre, lo que permite el transporte de O₂ desde la hemoglobina materna hacia la fetal a cualquier PO₂ dada³³.

Los efectos de Haldane y Bohr aumentan más la p_{50} en la interfase placentaria. El efecto de Haldane comprende la liberación de CO_2 desde la sangre fetal, con desviación de la p_{50} fetal hacia la izquierda e incremento de su afinidad por el O_2 , en tanto la captación simultánea de CO_2 e hidrógeno (H^+) por la hemoglobina materna desvía esa p_{50} hacia la derecha (efecto de Bohr). El efecto neto es una ampliación del gradiente de p_{50} de hasta 10 a 12 mm Hg, lo que aumenta la liberación de O_2 desde la hemoglobina materna hacia la fetal, y da por resultado una saturación alta de la hemoglobina fetal a valores de PO_2 bajos (20-30 mm Hg)²⁴⁷.

La transferencia de CO_2 a través de la placenta se basa en gran parte en la diferencia entre la presión arterial materna y fetal de dióxido de carbono (PaCO_2). La rapidez del transporte permite que el proceso sea independiente del flujo⁵⁵³.

Tanto en la primera como en la segunda etapa del trabajo de parto aparece acidosis materna y fetal, por lo que el gradiente de p_{50} materno-fetal se conserva y ambas curvas de disociación se desplazan a la derecha^{11 385}. Estos cambios, en el feto, se deben a un riego placentario disminuido que se acentúa según se acerca el final del parto. Al mismo tiempo el aumento de PCO_2 materno y fetal crea el impulso ventilatorio fetal que pronto se necesitará.

En síntesis, una vez que empieza el estrés propio del parto, los factores que controlan el transporte de gases están relacionados con los que influyen sobre los efectos de Bohr y Haldane sobre los valores de p_{50} materno-fetal en la interfase placentaria. Así, los factores que influyen sobre el pH y la PaCO_2 materno-fetales se convierten en los factores claves en el grado de asfixia perinatal.

Aún desarrollándose el parto con toda normalidad, el estudio pormenorizado del estrés oxidativo en estos momentos decisivos tanto para la madre como para el hijo demuestra un aumento de los parámetros de peroxidación lipídica que puede conducir a diversas repercusiones funcionales importantes. El proceso del nacimiento se caracteriza por un episodio de hipoxemia obligatoria, seguida por reperfusión. Esta secuencia desencadena el sistema xantino-oxidasa con gran producción de radicales libres, para lo que el feto sano, a término está preparado (figura 8). En los casos en que esté presente algún tipo de patología previa, el neonato tendrá más dificultad para superar dicho estrés.

En el útero, el pulmón y otros órganos fetales están expuestos a tensiones de oxígeno hipóxicas (20-25 mm Hg). El tejido placentario permite un adecuado intercambio gaseoso entre los tejidos maternos y fetales, favoreciendo una oxigenación tisular efectiva y ejerciendo un importante papel desintoxicante sobre el estado redox fetal.

La circulación pulmonar del feto constituye un circuito de resistencia alta y flujo bajo que acepta menos del 10% del gasto ventricular combinado, un estado fisiológico singular que asegura suficiente flujo sanguíneo pulmonar para sostener el crecimiento y desarrollo de los pulmones.

No se entienden por completo los mecanismos que contribuyen a la conservación del alto tono en reposo en los pulmones del feto, pero comprenden

factores mecánicos (ausencia de interfase aire-líquido, distensión rítmica), bajas tensiones de oxígeno tanto a nivel alveolar como arteriolar, y un equilibrio entre reguladores del tono vascular (vasoconstrictores y vasodilatadores).

Las células endoteliales son capaces de producir y liberar varios mediadores que actúan en sitios diferentes en células de músculo liso subyacentes, para regular el tono vascular local, de gran importancia en las circulaciones fetal y pulmonar transicional. Entre estas sustancias destacan el óxido nítrico (NO), la endotelina (ET-1) y la prostaciclina (PGI₂). El equilibrio e interrelación de estas sustancias vasoactivas entre sí y con la concentración de oxígeno presente en el medio, determinan el éxito del establecimiento de la circulación extrauterina.

Ya en la etapa neonatal, la interrelación y el equilibrio entre los distintos agentes vasoactivos responsables de la regulación del tono vascular determina el que se desarrolle inflamación e hipoxia-isquemia ante distintos desencadenantes.

El fracaso de dicha adaptación en el recién nacido desemboca en situaciones anómalas como persistencia del conducto arterioso, hipertensión pulmonar persistente, patologías en las que están implicadas la disregulación de los factores se alados⁵⁶⁰.

6.9.1.2. Óxido nítrico

El óxido nítrico (\cdot NO) es un gas biológicamente activo, producido por casi todos los tipos celulares del organismo y que participa en muy diversos procesos como la regulación del tono vascular (endotelio), la neurotransmisión (sistema nervioso central y periférico) y la citotoxicidad mediada por células (macrófagos y neutrófilos)^{64 282 323 324}. Debido a su bajo peso molecular (30 Da) y a su naturaleza lipofílica, el \cdot NO difunde rápidamente a través de las membranas lipídicas y de las paredes celulares de bacterias y hongos.

La magnitud y la duración de la síntesis de \cdot NO por las células determinan que su acción sea fisiológica o patológica. Las acciones fisiológicas son mediadas por pulsos de pequeñas cantidades de \cdot NO, las cuales pueden aumentar los niveles de cGMP a través de la nitrosilación del hemo de la guanilato ciclasa, produciendo la dilatación de los vasos sanguíneos, la desagregación plaquetaria y la apertura y cierre de algunos canales iónicos. Las actividades patológicas son el resultado de la producción sostenida de altos niveles de \cdot NO, que pueden inactivar enzimas dependientes de hierro, involucradas en la respiración mitocondrial, en la producción de energía y en la replicación celular. Altos niveles de \cdot NO interactúan con un gran número de moléculas blanco, incluyendo aquellas que responden a bajos niveles de \cdot NO como la guanilato ciclasa.

Las oxido nítrico sintasas (NOS) catalizan la oxidación de uno de los dos nitrógenos guanidínicos equivalentes de la L-arginina, aminoácido semi esencial, para producir \cdot NO y L-citrulina^{293 294}. Otros sustratos requeridos son el oxígeno molecular (O₂) y el NADPH.

La formación de \cdot NO procede en dos pasos y consiste en la oxidación de cinco electrones de la L-arginina, dos electrones son provistos por el NADPH para producir

N_G-hidroxi-L-arginina, seguida de una oxidación de tres electrones del nitrógeno hidroxilado para formar ·NO (Figura 17).

La síntesis de ·NO se produce de dos formas, una constitutiva de baja producción y otra inducible de alta producción. Los dos tipos de NOS pueden coexistir en la misma célula. Las células endoteliales, por ejemplo, liberan ·NO por un tiempo prolongado en respuesta a TNF-alfa y sólo brevemente cuando son estimuladas con un agonista de Ca²⁺ como la bradiquinina⁸¹. Por otro lado, es interesante considerar que el tratamiento de células endoteliales o macrófagos con TNF-alfa o lipopolisacáridos bacterianos (LPS) puede estimular la NOS inducible pero disminuir el RNA mensajero de la NOS constitutiva.

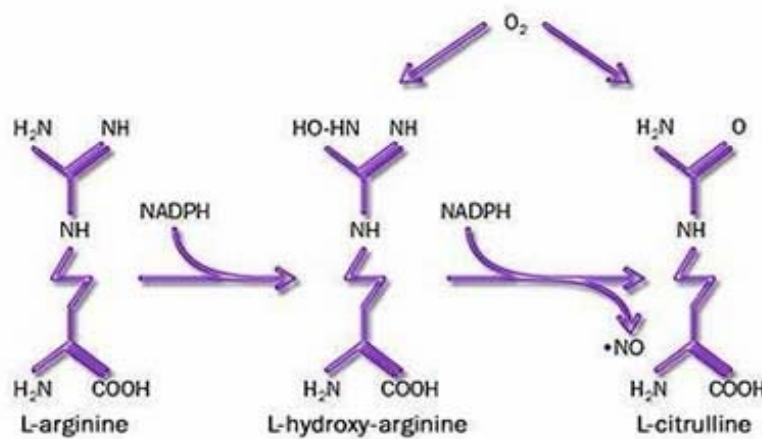


Figura 17:
Formación de ·NO.

El ·NO puede actuar dentro de la célula en la cual es generado o difundir a las células adyacentes activando la guanilil ciclasa soluble, lo que resulta en un aumento de los niveles de cGMP²¹⁷. Este aumento puede conducir a la activación de la proteinquinasa dependiente de cGMP (PKG), la fosforilación alterada de muchas proteínas endógenas, la disminución de la actividad de la fosfolipasa C y la disminución del calcio citosólico. La disminución del calcio intracelular es responsable de la relajación mediada por ·NO del músculo liso vascular y no vascular, de la inhibición de la agregación y adhesión plaquetaria, de la inhibición de la adhesión leucocitaria y es una señal de transducción del sistema nervioso central y periférico¹³².

Algunos efectos del ·NO, como los citotóxicos, son independientes de cGMP y se deben a la interacción directa del ·NO con un grupo prostético férrico. El ·NO interacciona con el centro Fe-S de la aconitasa o de algunas enzimas de la cadena mitocondrial de transporte de electrones como la NADH-oxidoreductasa o succinato-oxidoreductasa, alterando el metabolismo energético y la respiración celular⁹².

También actúa sobre la ribonucleótido reductasa inhibiendo la replicación celular.

La degradación de ·NO ocurre como consecuencia de la oxidación producida por el anión superóxido (O₂⁻), que da lugar al anión peroxinitrito (ONOO⁻)³⁶, que a su vez, se degrada a otro agente oxidante, el anión hidroxilo (OH⁻), y a nitrato. El ONOO⁻ produce la oxidación de tioles y la nitración de aminoácidos aromáticos de péptidos y proteínas y contribuye al daño oxidativo del DNA^{400 401}.

La NOS también puede ser una fuente significativa de $O_2^{\cdot-}$; así, el NO es al mismo tiempo un radical libre y un mediador importante de muchas funciones biológicas.

En los últimos años, trabajos independientes encontraron una \cdot NO sintasa funcional en las mitocondrias de hígado de *rata*^{164 168}. Estudios posteriores revelaron que la enzima se localiza principalmente en la membrana interna mitocondrial, en proximidad a los complejos de la cadena respiratoria. La producción de \cdot NO medida en mitocondrias permeabilizadas es dependiente de L-arginina y NADPH, y puede ser parcialmente bloqueada por inhibidores de las \cdot NO sintasas como la L-NMMA y la L-NIO, sugiriendo que esta isoforma es estructuralmente similar a las \cdot NO sintasas ya descritas. La producción de \cdot NO por la mitocondria podría estar relacionada con la modulación de la respiración mitocondrial, la regulación de la disponibilidad de oxígeno y energía de los tejidos y quizás, con la señalización intramitocondrial que desencadena el proceso de apoptosis o muerte celular programada.

6.9.1.3 . Parto pretérmino

El nacimiento prematuro es un problema importante de salud pública, cuya etiología sigue siendo desconocida. Como posibles causas se han propuesto las infecciones intrauterinas¹³¹ y sistémicas¹⁶⁶; así los radicales libres de oxígeno pueden actuar como transductores de señal mediante la modificación indirecta de la biodisponibilidad de otro radical libre, el NO³⁷. El embarazo se caracteriza por una regulación al alza de NO y de GMPc (el producto de la actividad guanilato ciclasa y uno de los segundos mensajeros del NO)⁵²⁹. Una desviación en el balance redox con el gasto consecuente del NO hacia la formación de ONOO- podría producir efectos relacionados con una relativa falta de NO para sus papeles fisiológicos durante el embarazo así como también la formación directa de ONOO-.

En muchas especies existe una formación aumentada de NO por los vasos sanguíneos y el miometrio con diversas vías de regulación⁷². Como el sistema del NO es regulado en el miometrio o la placenta, sobre todo durante la gestación, se ha sugerido que la generación de NO durante la gestación pudiera contribuir al mantenimiento de la quiescencia uterina, mientras que si es retirado antes del parto podría desencadenarlo.

Aunque la inhibición de la NOS en ratas no causa parto prematuro *per se*, si que se potencia el efecto de un antagonista del receptor de la progesterona en la inducción de trabajo de parto pretérmino⁵⁴⁵. A este respecto, se ha demostrado que el útero de la rata expresa tanto la NOS_e como la NOS_i, pero esta última isoforma de la enzima es la que durante el embarazo se regula más⁴⁶⁰. En cambio este escenario se invierte en el cérvix de la rata con una alta producción de NO, casi exclusivamente producto de la NOS_i, que ocurre durante el trabajo de parto y que modula la colagenólisis asociada con maduración cervical⁷³. La inyección de lipopolisacáridos (LPS9 a las ratas durante el embarazo regula al alza la NOS_i en el cérvix, alcanzando valores de NO similares a los observados en el trabajo de parto a término. De cualquier forma, los LPS no afectan la producción de NO en el útero gestante, lo que puede sugerir que la producción de NO en el útero ya se encuentra regulada al alza al máximo de su capacidad⁷³. Estos hallazgos son indicativos de que el NO puede tener diferentes efectos en tejidos

reproductivos adyacentes: la quiescencia fisiológica en el útero y la colagenólisis asociada con el reblandecimiento tisular del cérvix.

Las células inflamatorias producen grandes cantidades de O_2^- , de NO y, por tanto, de ONOO-, lo que contrasta con la generación de NO en útero durante el embarazo, donde solo se producen cantidades mínimas de O_2^- , y la mayor parte debidas a una baja actividad de una xantina oxidasa endógena. Con la infección intrauterina o corioamnionitis, la formación del ONOO- puede hacer que el NO se desvíe de su papel fisiológico y, así, convertirse en un iniciador crítico de acontecimientos que llevan a procesos que terminan en parto pretérmino y en resultados fetales adversos⁷¹.

Todos estos estudios sugieren que los radicales de oxígeno están involucrados en la fisiopatología que lleva al parto pretérmino. De ese modo, la prevención o neutralización de radicales libres de oxígeno podría ser el blanco terapéutico ideal para prevenir el parto pretérmino y el compromiso fetal asociado, con el ambiente intrauterino hostil, que se traduce en morbilidad fetal y perinatal⁷¹.

6.9.1.4. Preeclampsia.

La preeclampsia es una alteración específica del embarazo humano que afecta en forma adversa a la madre (produciendo disfunción vascular) y al feto (mediante limitación del crecimiento intrauterino). Desde la antigüedad, esta enfermedad lidera la mortalidad materna y perinatal. Se la designó como “la enfermedad de las teorías”, lo que refleja la confusión que rodea sus causas y patogénesis. Sin embargo, en los últimos años se han realizado avances para aclarar esta patología⁴²⁰.

La preeclampsia se caracteriza por vasoespasmo, aumento de la resistencia vascular periférica y reducción de la perfusión tisular. El síndrome es polimórfico, ya que virtualmente cualquier tejido y sistema orgánico puede ser afectado, se diagnostica por la aparición de hipertensión y proteinuria, los signos así como los síntomas revierten tras el parto.

La patogénesis de la preeclampsia ha sido siempre un enigma y en las últimas dos décadas las hipótesis variaron desde una infección helmíntica hasta isquemia de la placenta²⁸⁴. Sea cual fuere el factor desencadenante primario, prevalece la hipótesis que Roberts propuso hace más de una década, de que la disfunción endotelial era el elemento clave en las diversas manifestaciones de la eclampsia⁴⁸⁹.

Varias líneas de evidencia indican que los cambios adversos en la estructura y función del endotelio vascular materno son los responsables de la reactividad vascular alterada, la activación de la cascada de la coagulación y el daño multisistémico que ocurre en la preeclampsia.

Se ha observado el aumento de una variedad de moléculas de señal, indicadoras de disfunción endotelial en la sangre y en la orina de las mujeres con preeclampsia. Muchas de estas sustancias, como VCAM-1 y fibronectina celular, se hallan elevadas desde semanas antes de la evidencia clínica de preeclampsia⁴²⁰.

La placenta es un órgano de rápido crecimiento en paralelo con el del feto. Para ello dispone de una invasión de sus vasos sanguíneos por trofoblastos que reemplazan el

endotelio, la lámina elástica y el músculo liso aumentando considerablemente el diámetro del vaso.

En la preeclampsia, la placenta muestra una expresión anormal de integrinas que regulan las interacciones intercelulares, produciendo una inhibición de la invasión de trofoblastos. Esto se traduce en una menor perfusión de la placenta²⁶⁵. Una característica distintiva de los vasos placentarios en esta enfermedad es la presencia de lesiones similares a la arteriosclerosis.

El desarrollo y la función anormales de la placenta se encuentran involucrados de una forma particular en la génesis de la preeclampsia y en el crecimiento restringido intrauterino. Esto produce una disfunción multiorgánica y, en este aspecto, la preeclampsia comparte varias semejanzas con el síndrome séptico.

Según Austgulen la preeclampsia se desarrolla con la interacción entre la enfermedad o daño en la placenta y las respuestas maternas. Las respuestas inmunes parecen sustentar la enfermedad placentaria, mientras que aspectos genéticos determinan la susceptibilidad maternal²⁰.

Se ha sugerido que el embarazo normal está asociado con una respuesta inflamatoria, como consecuencia de restos apoptóticos que ingresan a la circulación materna, y la preeclampsia representaría una forma extrema de dicha respuesta inflamatoria sistémica^{261 405}.

Se propuso que, a semejanza de lo que sucede en la aterosclerosis y la vasculopatía diabética, el estrés oxidativo es un componente de la preeclampsia y constituiría un enlace entre la disminución de la perfusión de la placenta y el síndrome materno. Se han detectado marcadores de estrés oxidativo en la sangre de mujeres con preeclampsia, evaluando el estrés oxidativo en pacientes con preeclampsia y en sus recién nacidos, las enzimas antioxidantes estaban disminuidas y la lipoperoxidación lipídica aumentada, ambas de forma proporcional a la severidad de la patología⁹⁵.

Se han descrito marcadores de estrés oxidativo en el tejido placentario de mujeres con preeclampsia⁴¹⁹.

- Disminución de la actividad de SOD total
- Disminución de actividad de GPX
- Disminución de expresión de Cu Zn SOD
- Aumento de actividad de XO
- Aumento de nitrotiroxina
- Aumento de hidroperóxidos
- Aumento de 8-isoprostano
- Aumento de malondialdehído
- Aumento de leucocitos activados

(SOD: superóxido dismutasa; GPX: glutatión peroxidasa; XO: xantina oxidasa)

La lipoperoxidación se evidencia por la presencia de muchos productos de esta reacción en cadena. Uno de estos productos es el isoprostano, producido por la

oxidación del ácido araquidónico catalizada por radicales libres. El isoprostano libre posee actividades de importancia en la preeclampsia y es un poderoso vasopresor, activador plaquetario y mitogénico^{421 515}.

En mujeres con preeclampsia, la producción in vitro de hidroperóxidos lipídicos y de tromboxano está aumentada tanto en las células trofoblásticas, como en el tejido de las vellosidades de la placenta. La producción de isoprostanos también está aumentada en el tejido incubado de placenta de mujeres con preeclampsia comparado con tejido de placenta de embarazo normal⁵²⁰. Sin embargo, no hubo demostración directa de la acumulación de productos de la lipoperoxidación en la circulación materna.

Un hallazgo interesante, ya descrito anteriormente, es el aumento de nitrotiroxina en la vasculatura de la placenta. La nitrotiroxina es un metabolito del peroxinitrito³³⁰, el cual a su vez es el producto de la reacción del óxido nítrico con el anión superóxido. Este hallazgo sugiere varias cosas: que existe un aumento de anión superóxido⁴⁸⁷ y por lo tanto la presencia de un estrés oxidativo y que por ende hay una menor disponibilidad de óxido nítrico (que posee una actividad vasodilatadora potente), ya que éste interacciona con el anión superóxido formando el peroxinitrito, que a su vez, en grandes concentraciones es un poderoso oxidante de lípidos y proteínas. Por su parte, Tastekin y colaboradores, en su trabajo en hijos de pacientes con preeclampsia publicado en 2005, sí confirman un aumento en la actividad de la superóxido dismutasa, en cambio, no encontraron diferencias en cuanto a la concentración de malondialdehído⁴⁸⁷, a diferencia de otros autores⁷⁵ que sí corroboran estas diferencias, partiendo de la peroxidación lipídica como responsable de los cambios fisiopatológicos que tienen lugar en la vasculatura útero-placentaria durante la preeclampsia, los cuales son proporcionales en frecuencia e intensidad a la concentración e malondialdehído plasmático.

Se han investigado los hidroperóxidos lipídicos en relación con la actividad de los radicales libres en la preeclampsia y en el síndrome de HELLP, muchos autores concluyen que un aumento en las sustancias reactivas del tiobarbitúrico es representativo de la circulación plasmática de hidroperóxidos lipídicos en mujeres con preeclampsia¹²². La hipertensión inducida por el embarazo se ha asociado con una sobreproducción de peróxidos lipídicos y una disminución de la defensa antioxidante³⁹⁴.

Por lo tanto, la presencia de un estrés oxidativo puede ser el punto en el cual convergen múltiples factores resultantes en la disfunción endotelial y las subsiguientes manifestaciones de la eclampsia. Este estrés oxidativo puede tener un papel importante en la disfunción endotelial de la preeclampsia al disminuir la disponibilidad de óxido nítrico que constituye el principal vasodilatador endotelio dependiente³³¹.

La xantina oxidasa, es una importante fuente de superóxido y existen publicaciones que informan sobre un aumento de la enzima en las vellosidades placentarias invasoras de pacientes con preeclampsia^{291 330}.

La vitamina C o ascorbato en plasma disminuye gradualmente a lo largo del embarazo normal. Este fenómeno se acentúa aún más en la preeclampsia según las publicaciones de dos artículos^{49 111}. En forma opuesta, la vitamina E plasmática aumenta durante una gestación normal. Esto podría deberse al aumento gestacional de las lipoproteínas circulantes que son las transportadoras naturales de vitamina E en sangre.

Pero en las pacientes con preeclampsia se pueden encontrar concentraciones de vitamina E significativamente menores a las observadas en pacientes sanas, y a las observadas en pacientes con hipertensión arterial crónica no complicada durante el embarazo¹⁷⁷. De esto se puede concluir que el aumento del estrés oxidativo en el feto de la paciente preecláptica está más relacionado con la fisiopatología de ésta última que con la hipertensión crónica²⁷⁷.

Diferentes estudios han encontrado una asociación entre la suplementación con vitaminas antioxidantes y una reducción en la incidencia de preeclampsia en mujeres con cierto riesgo de presentar esta enfermedad^{49 99 100 284}.

6.9.1.5 **Rotura prematura de membranas.**

La rotura prematura de membranas ovulares (RPM) se define como la solución de continuidad espontánea de la membrana corioamniótica antes del inicio del trabajo de parto. La RPM puede ocurrir en cualquier momento de la gestación, pero se asocia a mayor morbilidad cuando ocurre en el embarazo de pretérmino. Ella representa la condición asociada aproximadamente un tercio de los partos prematuros.

I. Composición de la membrana corioamniótica.

El amnios es un tejido complejo: es el tejido más profundo, adyacente al líquido amniótico, y tiene una capa simple de células cuboides no ciliadas y una membrana basal gruesa. Además, presenta una capa de tejido conectivo compuesta de fibras acelulares densas por debajo de la cual hay fibroblastos. Bajo el amnios hay una capa esponjosa compuesta de una gran cantidad de fibrillas sueltas o libres. El grueso de esta capa es el corion, compuesto de una lámina reticular de fibras, una membrana basal y, finalmente, células trofoblásticas. Por debajo de éste se encuentra la decidua materna, compuesta por células epiteliales especializadas, que permiten la separación del corioamnios de las capas endometrial y miometrial²⁹⁰.

Las metaloproteasas de la matriz (MMP) son una familia de endopeptidasas que, en conjunto, se adhieren a casi todos (sino a todos) los constituyentes de la matriz extracelular. Las enzimas son secretadas en el compartimiento intercelular como pro-MMP y requieren de una unión de una secuencia propeptídica o una perturbación de su conformación por un agente activador. Procesos autocatalíticos, con una unión posterior a una secuencia propeptídica, da como resultado una enzima completamente activa⁷¹.

La fuerza del amnios deriva del colágeno. El cuerpo humano tiene más de 12 tipos de colágeno, y al menos 5 de ellos se encuentran en el corionamnios.

La activación de las MMP es una característica general de muchos procesos inflamatorios caracterizados por una alta secreción de citocinas. Muchos experimentos *in vitro* indican una relación causal en la expresión y actividad entre muchas citocinas (interleucina 1, 6, 8, y factor de necrosis tumoral alfa o LPS, y la MMP. Adicionalmente, el estado redox del ambiente local altera la actividad de las MMP directamente, así como la magnitud de la respuesta inducida por las citocinas. De forma específica, un aumento en los prooxidantes o una disminución en los antioxidantes

aumentan la actividad MMP en muchos tipos celulares. Además, la activación de las MMP es inhibida en los tejidos por los agentes reductores que contienen tiol (glutathion reducido y NAC), pero no por los que no los contiene, y aumenta la inhibición tisular de la expresión de MMP en células transformadas⁷¹.

La degradación del colágeno dentro del corioamnios es controlada por las metaloproteinasas de la matriz y la liberación de estas metaloproteinasas está modulada por los tejidos inhibitorios de las metaloproteinasas (TIMPS), de los que ahora se conocen 4 tipos. El mantenimiento del corioamnios durante la gestación normal requiere un balance entre la síntesis de colágeno por los fibroblastos y la actividad colagenolítica por respuestas controladas de enzimas, que se expresan en las membranas fetales.

II. Etiología de la RPM

La etiología de la RPM es desconocida en la mayoría de los casos. Sin embargo, se han identificado varias condiciones predisponentes:

1. *Alteración de las propiedades físicas de las membranas.*

El colágeno y la elastina jugarían un rol importante en la manutención de la integridad de la membrana corioamniótica, la que en condiciones normales exhibe un equilibrio entre actividad enzimática proteasa y antiproteasa. La literatura es consistente en señalar que las membranas de los embarazos con RPM son más delgadas y tienen menos elasticidad y resistencia que aquellas que permanecen íntegras hasta su rotura durante el trabajo de parto. Por otra parte, se ha comunicado que las proteasas locales elaboradas por fibroblastos, macrófagos y bacterias, juegan un rol en la remodelación molecular de la membrana corioamniótica. Se ha demostrado que la actividad proteasa está aumentada y que existen bajas concentraciones de alfa 1 antitripsina (A1AT) en el líquido amniótico (LA) de embarazos con RPM. Además, se ha aislado una proteína antiproteasa en orina y pulmón fetales, lo que apoya la idea de una participación fetal en la protección de la integridad de las membranas.

2. *Rol de la infección en la rotura prematura de membranas.*

La rotura de membranas puede resultar de una infección cérvicovaginal o intrauterina. La infección bacteriana, directa o indirectamente (vía mediadores de la respuesta inflamatoria), puede inducir la liberación de proteasas, colagenasas y elastasas, que rompen las membranas ovulares. Los gérmenes pueden alcanzar el LA estando las membranas ovulares rotas o íntegras, pero el oligoamnios favorece la colonización del LA al deprimirse su actividad bacteriostática. La vía de infección puede ser ascendente (a través del canal cervical), hematológica (transplacentaria), canalicular (tubárica) y por medio de procedimientos invasivos (amniocentesis [AMCT], cordocentesis, transfusiones intrauterinas).

Diferentes autores han señalado que el LA tiene actividad bacteriostática, la que se encuentra disminuida en pacientes con RPM e infección intramniótica, pudiendo constituir éste un factor primario predisponente a la colonización bacteriana. Evidencias estadísticas demuestran una relación entre RPM y coito previo (hasta las 4 semanas precedentes). Se ha mostrado que el líquido seminal disminuye la resistencia de las membranas por acción prostaglandínica, colagenolítica y por adhesión de bacterias al espermio que transportaría a los gérmenes a través del canal endocervical.

3. Condiciones clínicas asociadas.

La mayoría de las "condiciones asociadas a la RPM" determinan una tensión excesiva de las membranas ovulares. Ellas son: polihidramnios, embarazo gemelar, malformaciones uterinas y tumores uterinos.

4. El corionamnios: un blanco para el daño por las especies reactivas de oxígeno

Se ha demostrado que el colágeno, en varios tejidos es un blanco primario de las ERO. Además, el corioamnios es una membrana biológicamente activa en la que las enzimas colagenolíticas son vulnerables a la estimulación de éstas. Cuando segmentos de corioamnios a término en cultivo se exponen a superóxidos, se incrementa la actividad de las MMP, y este incremento inducido por las ERO es suprimido por la superóxido dismutasa o el precursor de la glutatión N-acetilcisteína⁷⁴.

La exposición *in vitro* de amniocitos cultivados a las ERO demuestra evidencia adicional de alteraciones en la biología intracelular, que podrían predisponer a la RPM. Cuando se exponen a superóxido los amniocitos exhiben un incremento del Ca^{2+} y del pH, una disminución en el Mg^{2+} , y una liberación de ácido araquidónico, precursor de la PGE_2 . Por otro lado, cuando se impide un aumento en el Ca^{2+} , no se observa un aumento en la liberación de ácido araquidónico. Debido a que éste es dependiente del incremento de Ca^{2+} , que a su vez es dependiente de la disminución de Mg^{2+} , se sugiere que el superóxido u otras ERO desencadenan esta cascada de acontecimientos biológicos. Este concepto contrasta con lo observado *in vitro* sobre las citocinas inflamatorias que liberadas por fagocitos en respuesta a la inflamación, estimulan la producción de prostaglandinas⁴²⁸.

Otros modelos de membrana amniótica expuestos proveen evidencia adicional de la capacidad de las ERO de alterar la biología del corioamnios. A este respecto se ha publicado un modelo amniótico acelular, en el que los neutrófilos sobre un lado de la membrana fueron activados por un péptido quimiotáctico (FMLP) o acetato de forbolmiristato (PMA). La lesión se midió por la liberación de fibronectina fetal y la presencia de superóxido. Los resultados indicaron que los PMN inducidos por PMA causan la liberación de superóxido y elastasa (que degrada el colágeno), que puede llevar a la solubilización de las membranas y a la rotura de la membrana basal⁴⁵⁶.

Algunos autores han asociado la peroxidación lipídica con la rotura prematura de las membranas amnióticas, como desencadenante directo o bien como factor relacionado con enfermedades causadas por rotura prematura de membranas⁵⁵⁴.

Recientes estudios han encontrado que la NADPH oxidasa, enzima generadora de especies reactivas de oxígeno, se encuentre activada en corionamnionitis (CAM). Temma K y col. estudiaron el efecto de 4-hidroxi-2-nonenal (HNE), el cual es un marcador de estrés oxidativo, sobre placenta humana durante el parto pretérmino y encontraron que los niveles de proteínas modificadas por HNE estaban aumentadas en las placentas con CAM comparadas con placentas de los casos normales⁴⁹⁰.

El ácido hipocloroso (OHCL) es un factor potencial de ruptura prematura pretérmino de membranas (RPPM), y hasta ahora es considerado la ERO predominante. Este ácido formado por neutrófilos, activado por exposición a bacteria o complemento, libera mieloperoxidasa. En presencia de H₂O₂ se forma un compuesto que, a través de la cloronización, genera OHCL. Se ha demostrado que el OHCL inicia la peroxidación lipídica de lipoproteínas y lisosomas fosfolípidos. La filtración de OHCL dentro de la matriz mantenida por los neutrófilos adyacentes al corioamnios, en respuesta subclínica a las bacterias, podría adelgazar la membrana fetal. Se ha demostrado que el ácido hipocloroso estimula la liberación de procolagenasa e inhibe la actividad de tejido inhibitorio de metaloproteínasa, acontecimientos que podrían resultar en daño del colágeno en el corioamnios⁵⁴².

En resumen la bibliografía indica que la RPM podría resultar de un daño del epitelio amniótico o del colágeno en el corioamnios, inducido por las ERO. Esta hipótesis está apoyada por:

- a) estudios epidemiológicos que enlazan condiciones clínicas conocidas que producen las ERO o reducen la protección antioxidante a la RPPM;
- b) estudios *in vitro* en los que los segmentos de membrana expuestos a ERO exhiben alteraciones tisulares consistentes con RPPM, y
- c) estudios clínicos que evidencian que las muestras del corioamnios y del líquido amniótico obtenido de pacientes con RPPM exhiben excesiva degradación del colágeno.

El papel del antioxidante para proteger el corioamnios del daño de las ERO es sugerido por un estudio reciente *in vitro*⁵⁴².

6.9.1.7. *Diabetes gestacional.*

Numerosos autores afirman que las madres con diabetes mellitus o con diabetes gestacional inducen estrés oxidativo a sus hijos^{50 51 101 105 244}, probablemente no sólo por un aumento de los radicales libres, sino también por un daño en los mecanismos de defensa antioxidante. Algunos autores, incluso han apuntado la necesidad de medir este estrés oxidativo en las pacientes diabéticas con el fin de prevenir las complicaciones en la clínica²⁴⁵, así como la necesidad de la suplementación con antioxidantes³⁷⁷.

La teratogenicidad de la diabetes gestacional se ha visto relacionada con el estrés oxidativo en el embrión, donde la extensión del daño se puede reducir aparentemente con los antioxidantes⁵⁵⁹.

Se ha podido demostrar una disminución en la actividad de la enzima superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa en embriones de rata cultivados en medios con altas concentraciones de glucosa y cuerpos cetónicos, al igual que una disminución de vitaminas C y E en estos embriones. Cuando se adiciona a los medios de cultivo diabéticos estas vitaminas se revierte completamente todos los cambios producidos por la diabetes, aumentando las concentraciones de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa y catalasa, y disminuyendo la peroxidación lipídica embrionaria; mientras que si se las adicionamos a embriones normales, no se observa ningún cambio⁵⁵⁹. A nivel genético, se ha observado que disminuye el ARM-m que codifica la superóxido dismutasa, debido a una hibridación resultante del efecto directo de factores metabólicos

diabéticos sobre el genoma de la superóxido dismutasa¹⁹⁰ y que se revierten al adicionar a los medios de cultivo vitaminas C y E⁵⁵⁹.

El ácido úrico aumenta durante el estrés oxidativo y el daño celular, especialmente durante la necrosis celular³⁶³, se ha observado un aumento de ácido úrico en los embriones cultivados en condiciones diabéticas, lo que podría explicarse por el aumento de la apoptosis⁵⁵⁹. Las altas concentraciones de ácido úrico también pueden actuar como un prooxidante ya que pueden disminuir el reciclado redox del α -tocoferol⁴⁶⁵, y aumentar la peroxidación lipídica, esto es otro punto adicional a los mecanismos de daño embrionario causados por la diabetes⁵⁵⁹.

El estrés oxidativo inducido por la diabetes gestacional se manifiesta como un aumento de productos de la peroxidación lipídica y con un daño oxidativo en las proteínas eritrocitarias tanto maternas como fetales, que se han utilizado como indicadores eritrocitarios de la actividad de los radicales libres del oxígeno en la diabetes gestacional. Las concentraciones de malodialdehído son altas en los hijos de los pacientes con diabetes gestacional, y tienen una relación directa y significativa con los niveles de hemoglobina glicosilada²³².

6.9.2 . **NEONATO.**

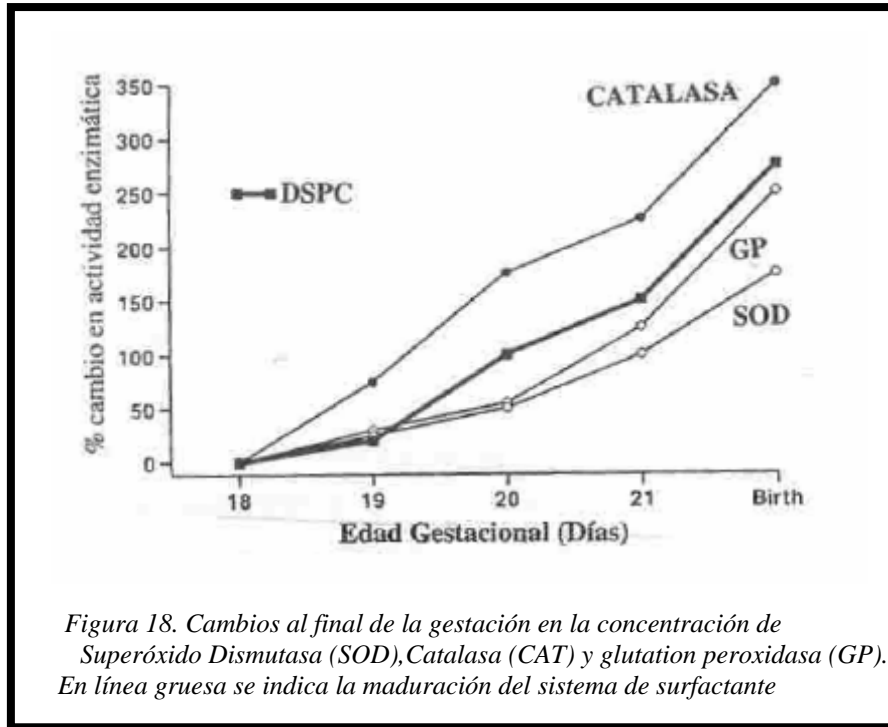
En la edad pediátrica cada vez son más los hallazgos significativos en los que se implica al estrés oxidativo como fuente de daño en mayor o menor grado. De hecho, el recién nacido está expuesto a un mayor grado de estrés oxidativo debido a su inmadurez orgánica y al cambio brusco de concentración de oxígeno, de un medio como el útero, pobre en dicho gas en comparación con el aire ambiente.

No obstante, los neonatos a término cuentan con mecanismos de protección más adecuados frente a los efectos de los radicales oxigenados libres que los adultos o los prematuros, debido a un mayor nivel, fundamentalmente a nivel plasmático, de antioxidantes, como la bilirrubina, y a un menor contenido en lípidos oxidables⁵³². Éstos últimos deben soportar un grado de estrés oxidativo mayor que los nacidos a término, y con un sistema antioxidante inmaduro⁷⁸. A su vez, el nivel de estrés en los pretérminos aumenta cuando éstos se ven sometidos a procesos que motiven hipoxia⁴⁴³. Esta mayor exposición del prematuro a la acción de los radicales libres derivados del oxígeno⁴⁴² motiva una participación de éstos en procesos como la broncodisplasia pulmonar, la retinopatía de la prematuridad, el daño hepatocelular o la fibroplasia retrolental^{56 258 511 528}, así como en la hemorragia intraventricular de los pretérminos²⁴².

El ya citado mayor grado de hiperoxia motivó la propuesta de reanimar a los neonatos que lo precisen utilizar para ello bolsa autoinflable con aire ambiente⁴⁴⁴. No obstante, el concepto de la falta de preparación del prematuro para combatir el estrés oxidativo se basa fundamentalmente en la experimentación con animales. En seres humanos pretérminos son escasos los estudios que relacionen directamente el desarrollo ontogénico y la expresión de las enzimas antioxidantes en los distintos tejidos.

Entre los mecanismos de protección frente a la hiperoxia que se ponen en marcha en el período perinatal se encuentra el incremento de enzimas antioxidantes (Figura 18), cuyo crecimiento sigue una curva similar a la del surfactante pulmonar. Frank y cols. sugieren como explicación a este crecimiento el incremento progresivo y endógeno de los sustratos oxigenados para estas enzimas¹⁵¹. Se ha demostrado una

mayor concentración de hidroperóxidos, un menor nivel de alfa-tocoferol y una menor actividad de la SOD y GPX en citosol en recién nacidos pretérmino en relación en relación a recién nacidos a término³⁵².



También se ha observado un incremento progresivo de la peroxidación lipídica (Figura 19) y del índice glutathion oxidado/glutathion reducido¹⁵¹. La maduración prenatal de los sistemas antioxidantes no es simultánea en todos los órganos y sistemas, siendo más precoz en corazón, seguido pulmón, por último, riñón, lo que explicaría la mayor vulnerabilidad de éste último al estrés oxidativo¹⁹⁵. En los partos prematuros no se produce este proceso preparatorio, lo que, añadido a la mayor susceptibilidad al daño producido por radicales libres, predispone a estos pacientes a una mayor incidencia de patologías como la displasia broncopulmonar.

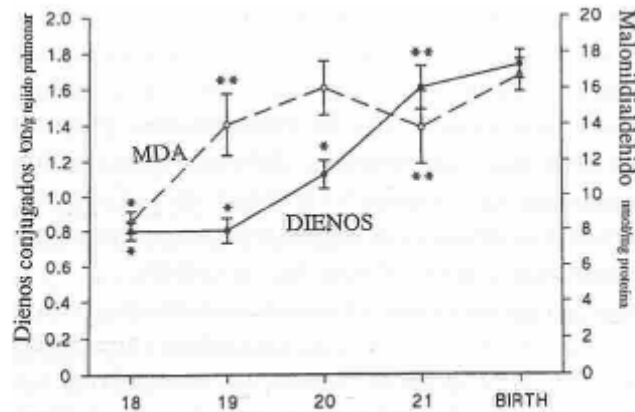


Figura 19: Variaciones al final de la gestación en la tasa de peroxidación lipídica en pulmón fetal de rata. Se indica la concentración tanto de malonildialdehído (MDA) como de dienos conjugados. Se recogen los valores medios de 8-12 muestras de pulmón en cada grupo etario. * $p < 0,01$; ** $p < 0,05$: comparado con su valor en pulmón del animal recién nacido (Frank y cols. Biol Neonate 1996; 70:116-127).

6.9.2.1. Adaptación postnatal a la hiperoxia.

Autores reconocidos como Mercer, en 2002³¹⁴, trataron el tema de la adaptación neonatal a la hiperoxia, e incluso llegaron a afirmar que la ligadura precoz del cordón umbilical disminuye la capacidad adaptativa del recién nacido pudiendo causarle la muerte.

Se ha demostrado una mayor adaptación de los animales a término a la transición a ambiente hiperóxico, de modo que soportan mejor el daño pulmonar inducido por dicho ambiente hiperóxico que los animales adultos. Así, experimentos con ratas recién nacidas han mostrado una supervivencia del 100% tras 72 horas de exposición a ambiente hiperóxico, frente a una supervivencia de sólo un 20% en ratas adultas. También se ponía de manifiesto una respuesta adaptativa significativamente menor en partos prematuros⁴⁹⁵.

En tejido pulmonar de fetos humanos y en el de ratas a término expuestos a concentraciones de oxígeno del 100%, se han detectado incrementos significativos del glutatión total, a expensas del glutatión reducido, con un aumento concomitante de otras enzimas con capacidad antioxidante como la glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, la glutatión reductasa y la glutatión peroxidasa⁵²⁶.

En el SNC, la capacidad de respuesta frente a la hiperoxia se relaciona tanto con la fisiología del cerebro como con las características químicas del mismo en esta etapa de inmadurez funcional y estructural, como son el bajo flujo sanguíneo, la escasa concentración de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga y una menor tasa metabólica energética. Frente a todo esto, en mamíferos adultos el principal mecanismo protector lo constituye la vasoconstricción cerebral transitoria.

6.9.2.2. Capacidad antioxidante en el período neonatal.

Se ha demostrado una correlación significativa entre la actividad antioxidante en cordón umbilical de neonatos prematuros y su peso al nacimiento⁴⁷⁵. Se piensa que la incapacidad antioxidante que presentan estos pacientes podría relacionarse con la patología por toxicidad del oxígeno. Sin embargo, otros estudios no encuentran diferencias estadísticamente significativas entre la madurez fetal y la actividad de algunas enzimas antioxidantes, como la superóxido dismutasa eritrocitaria⁴¹⁷. La concentración de lipoperóxidos es mucho menor en el tejido placentario en la gestación a término que en la preterminal⁴⁷⁹, según algunos autores por el aumento de la actividad de las enzimas catalasa y superóxido dismutasa a medida que avanza la gestación, de todos modos, se ha demostrado que la peroxidación lipídica es menos frecuente en el feto que en la madre⁵⁵⁷.

Como ya se ha citado anteriormente, existen dos sistemas de defensa antioxidante frente al estrés oxidativo, el primario, compuesto por la superóxido dismutasa, la catalasa, y las enzimas del ciclo redox del glutatión, en tanto que el sistema secundario de defensa lo constituyen diversas sustancias⁵³⁷. Ambos sistemas tienen como misión la retirada de las especies reactivas del oxígeno y otros hidroperóxidos generados durante el metabolismo normal. Se trata de un conjunto de

reacciones enzimáticas fundamentalmente intracelulares, aunque se han observado también concentraciones de glutatión en el fluido alveolar que recubre el epitelio pulmonar hasta 100 veces superiores a las plasmáticas, además de la presencia de otros antioxidantes, como transferrina, ascorbato, ácido úrico y otros. A su vez, se ha puesto de manifiesto una menor presencia de glutatión alveolar en neonatos con enfermedad pulmonar crónica.

El ácido úrico es un compuesto que mediante la neutralización del hipoclorito sódico sintetizado por los leucocitos, la captación de hierro libre y la inhibición de la producción de superóxido mediante la vía de la xantina oxidasa, tiene capacidad antioxidante. En estudios longitudinales con prematuros en sus seis primeras semanas de vida, se han puesto de manifiesto cambios importantes en la concentración plasmática de antioxidantes de primera línea: se produce un descenso de la concentración plasmática de vitamina C, ácido úrico y grupos sulfhidrilo. En tanto que la concentración de vitamina E aumentó de forma progresiva y la bilirrubina manifestó su comportamiento bimodal habitual. La capacidad de retirada de radicales peroxy (TRAP) descendió in vitro, en aparente correlación con los niveles descendientes de ácido úrico. En niños amamantados los niveles de TRAP fueron mayores⁵¹⁰.

6.9.2.3. Patologías del neonato por radicales libres del oxígeno.

Existe un grupo de enfermedades con alta incidencia en los recién nacidos pretérminos de muy bajo peso al nacer (RNB) que se han agrupado bajo el término de “enfermedades neonatales por radicales oxigénicos” e incluyen la displasia broncopulmonar (DBP), retinopatía del prematuro (ROP), ductus arterioso persistente (DAP), enterocolitis necrotizante (ECN) y hemorragia intraventricular (HIV). Posiblemente todas ellas son sólo aspectos diferentes de la misma enfermedad.

En condiciones normales del 2-4% del oxígeno utilizado por las células, no se reduce a agua, sino que genera especies de oxígeno reactivo. En condiciones normóxicas y en organismos aerobios, las defensas antioxidantes son suficientes para neutralizarlas. Sin embargo, el desequilibrio entre los mecanismos pro-oxidantes y oxidantes que ocurren en el recién nacido, sobre todo prematuro, originan, como ya se ha expuesto anteriormente, productos intermedios, radicales libres, fundamentalmente el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y radical hidroxilo (OH^{\cdot}).

En el útero, el pulmón y otros órganos fetales están expuestos a tensiones de oxígeno hipóxicas (20-25 mmHg). El tejido placentario permite un adecuado intercambio gaseoso entre los tejidos maternos y fetales, favoreciendo una oxigenación tisular efectiva y ejerciendo un importante papel desintoxicante sobre el estado redox fetal.

A continuación haremos referencia a algunos de los aspectos más específicos de cada una de estas patologías:

6.9.2.3. a. La retinopatía del prematuro (ROP) o fibroplasia retrolental.

Se trata de un cuadro que sólo acontece en niños de muy bajo peso al nacer cuyos vasos retinianos no han completado su desarrollo centrífugo a partir del disco óptico^{57 229}. El órgano diana del daño oxidativo es el territorio vascular retiniano, con

consecuencias tan graves como la pérdida de la visión²⁴⁰. Los factores implicados en su desarrollo son muy variados, aunque la edad gestacional y la intensidad y duración de la exposición a oxigenoterapia parecen ser los factores más determinantes para su desarrollo (Tabla 6).

Tras las mejoras en la atención al pretérmino derivadas de los avances en las Unidades de Cuidados Intensivos, junto con un conocimiento más exhaustivo del manejo de apoyo ventilatorio (en el que se incluye la monitorización constante de las presiones arteriales de oxígeno), la incidencia de ROP ha disminuido drásticamente, quedando casi relegada a los grandes inmaduros, con pesos inferiores a 1000 gramos²⁴¹.

El uso de vitamina E para la prevención de esta patología se ha aplicado con resultados poco concluyentes²⁴¹.

<i>Factores etiológicos implicados en la retinopatía de la prematuridad:</i>	
-	Grado de prematuridad
-	Hiperoxia
-	Hipoxia
-	Duración de la oxigenoterapia
-	Apnea
-	Sepsis
-	Transfusiones
-	Persistencia del ductus
-	Hiper/hipocarbica
-	Luz
-	Acidosis láctica
-	Radicales de oxígeno
-	Déficit de Vitamina E

Tabla 6: Principales factores relacionados con la patogénesis de la retinopatía del prematuro.

La tabla 7 recoge la incidencia de Fibroplasia retrolental en función del grado de prematuridad, según datos de Bossi y cols.⁵⁷:

E.G. (semanas)	24-27	28-31	32-35
Global (%)	40-89	19-63	0-28
Estadios 3	12-29	2-20	0-3.5

Tabla 7: Porcentaje de ROP en función de la edad gestacional.

La retina es un tejido neural rico en oxígeno, mitocondrias y PUFAs. Su tasa de consumo de oxígeno es muy elevada, mayor que cualquier otro órgano o tejido. Esta tasa de metabolismo del O₂ genera radicales libres que causan lipoperoxidación de las membranas ricas en PUFAs, dañando la función retiniana. Al déficit de protección antioxidante motivado por la prematuridad se añade el habitual déficit nutricional. En estos casos, la falta de magnesio y/o cobre genera un aumento de la síntesis de tromboxano A₂, dando lugar a vasoconstricción, con la consiguiente isquemia retiniana y proliferación reactiva de la vasculatura de la retina⁸³.

Para la prevención de esta patología se han promovido diversas actuaciones. La monitorización continua de la tensión de oxígeno de los pretérminos no ha reducido su incidencia. La administración de vitamina E, con función antioxidante sí parece eficaz²³⁰, aunque aún faltan datos que avalen su eficacia y su inocuidad. Se ha señalado el papel protector de la bilirrubina en esta patología¹⁹⁹, por su papel antioxidante²³⁰, aunque para otros autores la capacidad antioxidante de la misma es mínima^{41 158 199 373}.

6.9.2.3. b.- ***La displasia broncopulmonar (DBP).***

Es la patología pulmonar crónica más frecuente en el lactante como secuela de la enfermedad pulmonar sufrida en la etapa neonatal, más frecuente en prematuros, sobre todo cuanto más inmaduro sea. Su patogenia es multifactorial, destacando fundamentalmente la inmadurez pulmonar, el barotrauma (por la necesidad de ventilación mecánica) y la oxigenoterapia

El resultado de la agresión produce destrucción celular y sustitución del tejido pulmonar por tejido fibroso. La toxicidad del oxígeno, en el prematuro sometido a oxigenoterapia, dependiente de la formación de radicales libres, se ha comprobado a nivel experimental y humano²⁹.

Otros factores que intervienen en la agresión al tejido pulmonar es el desequilibrio entre enzimas proteolíticas- antiproteolíticas, de forma que se ha demostrado un descenso en la alfa₁ - antitripsina por oxidación, en aspirado traqueal de recién nacidos (RN) con BDP aguda²⁹. También se ha detectado un aumento de glutatión oxidasa en pacientes con riesgo de desarrollar DBP.

La causa de esta enfermedad es multifactorial, habiéndose implicado factores como la hipoxia, la inmadurez pulmonar, el barotrauma, la infección y la inflamación, entre otras⁵¹⁵ como la ventilación mecánica con elevadas presiones y el tratamiento con oxígeno a altas concentraciones de forma prolongada. La toxicidad del oxígeno inspirado a concentraciones elevadas produce lesión directa en las barreras endoteliales y epiteliales, y produce edema pulmonar²²¹. Se produce una secuencia de procesos y cambios morfológicos durante el aporte de oxígeno a elevadas concentraciones:

- a) fase exudativa, durante los primeros días;
- b) fase proliferativa, a la semana aproximadamente, en la que los neumocitos tipo I son sustituidos por los neumocitos tipo II;
- c) fase de remodelación pulmonar^{297 562}.

En algunos estudios se ha demostrado, por otro lado, la eficacia protectora de la SOD frente al estrés producido por la hiperoxia a nivel pulmonar¹¹⁹, aunque su papel como preventivo del desarrollo de futuras complicaciones pulmonares en estos pacientes es actualmente controvertido⁴⁷⁶.

Los hallazgos de laboratorio son muy similares a los encontrados en modelos experimentales de toxicidad pulmonar por oxígeno, por lo que se ha implicado en su patogénesis a los radicales libres²⁴². Entre los efectos tóxicos pulmonares mediados o producidos por los radicales libres se incluyen²⁴²:

- inhibición de la síntesis de surfactante,
- citotoxicidad sobre las células endoteliales, epiteliales y sobre los macrófagos alveolares,
- inhibición de la respuesta vascular pulmonar frente a la hipoxia,
- inhibición de los mecanismos de reparación pulmonar mediados por los fibroblastos,
- alteraciones en la ubicación del colágeno y desarrollo pulmonar anómalo.

Se desconoce la causa por la que la DBP, en iguales condiciones, afecta a unos prematuros y a otros no. Sí se sabe que a menor peso y edad gestacional las probabilidades de desarrollarla son mayores, entre otros aspectos por la inmadurez de los mecanismos antioxidantes. De hecho, varios estudios han mostrado, entre otros aspectos, la escasa actividad de los sistemas antielastasa y antiproteolítico³¹⁶, así como la baja concentración de lactoferrina y lisozima (Figuras 20 y 21), las dos proteínas más abundantes en el fluido alveolar epitelial, con actividad protectora de la mucosa alveolar en niños con DBP. La inmadurez de estas glándulas submucosas contribuye, pues, al desarrollo de DBP⁴¹¹

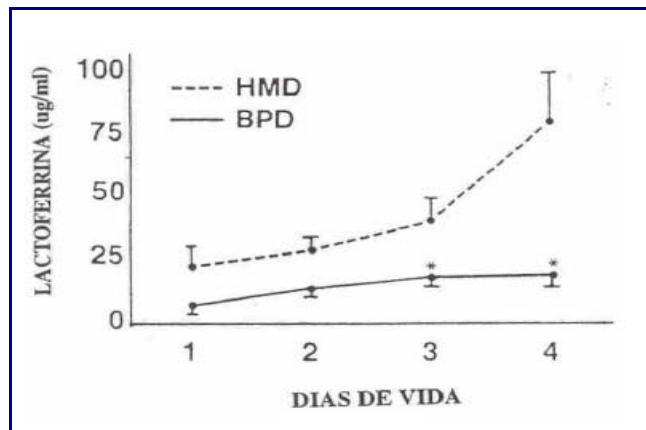


Figura 20. Concentración de lactoferrina en aspirado traqueal procedente de un grupo de lactantes con enfermedad de membranas hialinas (HMD) y otro grupo de lactantes con broncodisplasia pulmonar (BDP). * $p < 0,005$ mediante el test U de Mann-Whitney, con comparaciones posteriores mediante el método de Bonferroni.⁴¹¹.

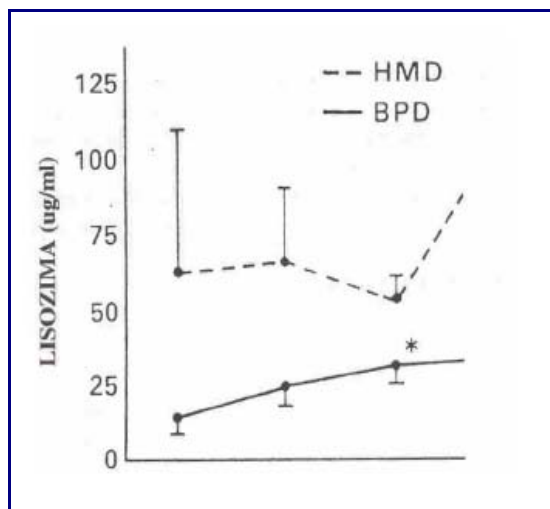


Figura 21. Concentración de lisozima en aspirado traqueal procedente de un grupo de lactantes con enfermedad de membranas hialinas (HMD) y otro grupo con displasia broncopulmonar (DBP). * $p < 0,05$ mediante el test U de Mann-Whitney, con comparaciones posteriores mediante el método de Bonferroni. La concentración de lisozima en niños con BDP leve-moderada fue significativamente superior en comparación con el grupo afecto de DBP severa (datos no representados aquí)⁴¹¹.

Otros factores implicados en la génesis de la DBP son:

A) La infección connatal, concretamente la colonización materna por ureaplasma urealyticum y en general la multitud de procesos infecciosos que sufren los pretérminos, que motivan entre otros aspectos un aumento de las células inflamatorias (fundamentalmente neutrófilos) a nivel alveolar³⁸⁰, lo que conllevaría un aumento de radicales libres procedentes del oxígeno (161).

B) Elevada proporción de hierro libre^{44 289}

C) Frecuentes episodios de apnea con isquemia, con elevada producción de superóxido y radicales hidroxilo tras la reperfusión.

El óxido nítrico (NO) es un compuesto con actividad antioxidante. Sin embargo, al reaccionar con radicales libres superóxido genera peroxinitrito, potente oxidante cuya presencia se ha demostrado tanto en tejido pulmonar de pacientes fallecidos por insuficiencia respiratoria como en ratas ventiladas con oxígeno al 100%¹⁸⁶. Su unión a Thioles produce nitrothioles, con lo que se evita el daño que supone, sin embargo el prematuro es deficiente en el thiol más abundante a nivel pulmonar, el glutation. Parece claro, no obstante, que en ausencia de superóxido el óxido nítrico no presenta actividad prooxidante.

Los radicales libres desnaturalizan enzimas citosólicas, incluyendo el inhibidor de la proteasa a1, cuya función es la de proteger los pulmones y las proteínas que conforman el surfactante de las proteínas presentes en los neutrófilos³⁶⁵. También desnaturalizan proteínas y DNA, e inician la peroxidación lipídica, con lo que se produce un daño en las membranas celulares y la inactivación del surfactante. Estas reacciones pueden ser cuantificadas ya que dejan marcadores que permiten valorar el grado de estrés oxidativo, entre los que se encuentran los hidroperóxidos, endoperóxidos, aldehídos productos finales del malondialdehído, etano y pentano (tras la oxidación lipídica), carbonilos proteicos (tras la afectación de proteínas) y 8-hidroxideoxiguanosina (OH8DG) cuando se afecta el DNA²⁴⁹.

6.9.2.3. c. Hipertensión pulmonar persistente neonatal.

En la fisiopatología de este proceso la implicación de los radicales libres también ha sido puesta de manifiesto. Así, en cerdos se ha comprobado que el sistema hipoxantina-xantino oxidasa provoca vasoconstricción pulmonar, que es inhibida tras la administración de alopurinol, indometacina o catalasa⁵²².

6.9.2.3. d. Persistencia del ductus arterioso.

En modelos experimentales, concentraciones fisiológicas de hipoxantina, en presencia de xantino-oxidasa, provocan la apertura del ductus, con aumento concomitante de la concentración de PGE2, en tanto que la indometacina y la catalasa inhiben tanto la producción de prostaglandinas como la apertura del ductus. De todo esto puede deducirse la capacidad dilatadora del ductus por parte de los radicales libres, posiblemente porque induzcan la producción de prostaglandinas en la pared ductal¹¹³.

6.9.2.3. e.- La enteritis necrótica (ECN).

Se trata, como los anteriores, de un proceso de etiología multifactorial, en el que la acción de los radicales libres ha sido puesta de manifiesto⁹¹. Es consecuencia entre otros factores, de las situaciones de isquemia-reperusión. El sistema gastrointestinal es una fuente importante de xantino oxidasa (XO), enzima clave en el inicio del daño producido por dicho proceso con el consecuente daño secundario de los leucocitos polimorfos nucleares²⁴¹.

Existen dos fuentes de radicales libres en el intestino isquémico: la xantino-oxidasa y los fagocitos, activados en parte por la actividad de los radicales libres, con el consiguiente daño al colágeno y la membrana mucosa basal, lo que conlleva un aumento de la permeabilidad capilar, edema, degeneración y daño celular y finalmente necrosis. En intestino delgado la concentración de xantino-oxidasa es muy elevada. La NEC acontece cuando los factores precipitantes (hipoxia, hipotermia, infección...) se han resuelto, o lo que es lo mismo, cuando se produce la reperusión de los tejidos isquémicos, con la consiguiente hiperproducción de radicales libres a partir del anión superóxido⁹¹. En animales adultos los metabolitos reactivos del oxígeno intermedian en la permeabilidad microvascular y de la mucosa intestinal que ocurre tras la reperusión del intestino isquémico⁹¹.

También se ha relacionado la peroxidación lipídica en la patogenia de la NEC, ya que en modelos experimentales de NEC los niveles de malondialdehído en homogeneizado de tejido intestinal son muy superiores a los presentes en el grupo control. En este modelo, la vitamina E ejerce un efecto protector^{112 361}.

La acción de estos dos generadores de radicales oxigénicos produce un incremento en la permeabilidad de la mucosa y el endotelio intestinal por peroxidación lipídica. Intervienen también en el daño oxidativo la activación de la fosfolipasa A₂, el hierro y la histamina.

Por otro lado, la gastrina como antioxidante intestinal, puede mediar un papel en la despolimerización del radical hidroxilo, mitigando así el daño producido por la isquemia-reperusión o por otros mecanismos causantes de úlceras gastroduodenales, mediados también por RL.

Asimismo en la patogénesis de las úlceras gastrointestinales se ha involucrado la presencia de RL, independientemente del mecanismo que las haya generado (isquemia-reperusión, etanol, salicilatos, antiinflamatorios no esteroideos, o estrés).

La acción de los neutrófilos activados acentúan la generación de O₂^{•-} y H₂O₂ en varios tipos de enfermedades inflamatorias intestinales.

6.9.2.3. f. Encefalopatía hipóxico-isquémica.

Los períodos de hipoxia neonatal, aun siendo breves en cuanto a su duración o moderados en su intensidad, se relacionan con importantes alteraciones en la perfusión cerebral, lo que puede dar lugar a lesiones celulares, motivadas entre otros aspectos por la acumulación de radicales libres. En cultivos de neuronas de ratas recién nacidas se detectó un aumento de radicales libres dependientes del óxido nítrico en el grupo sometido a hipoxia; así mismo, el nivel de radicales libres descendía de manera

estadísticamente significativa en los cultivos pretratados con superóxido dismutasa⁵¹⁵. De otro lado, en cerdos neonatos expuestos a hipoxia se pone de manifiesto una alteración tras repercusión post-isquemia en la reactividad microvascular, debida a los aniones superóxido y sus metabolitos¹⁴. Sin embargo, a nivel cerebral no parecen influir en la alteración de la vasodilatación²⁶⁶.

La acidosis secundaria al proceso isquémico produce liberación de hierro por parte de la transferrina, lo que facilita la síntesis de radicales libres que a su vez liberan más hierro procedente de la ferritina¹⁴⁰. El descenso de actividad tanto en la superóxido dismutasa como de catalasa a nivel hemático ha sido puesto de manifiesto tanto en neonatos con hipoxia aguda como crónica²⁷⁸.

La respuesta neuroendocrina al estrés utiliza diferentes vías de comunicación que juegan un rol específico en la plasticidad del desarrollo neurológico. Esta plasticidad es importante tanto para la evolución del SNC como para inducir patología como la alteración del ADN por especies reactivas de oxígeno, éstas afectan la transcripción de genes tanto en condiciones normales como en respuestas inducidas por estrés, y dependerá de muchos factores como la duración, la intensidad, y el momento de exposición¹⁶³.

La anomalía de los sistemas de defensa antioxidante podrían afectar al desarrollo neurológico teniendo incluso un rol importante en la etiología de patologías como la parálisis cerebral, dado que se ha encontrado que la actividad de la glutatión reductasa eritrocitaria fue menor en los niños con parálisis cerebral que en los controles, y la actividad de la glutatión peroxidasa eritrocitaria fue mayor que en los controles²⁵⁴.

6.9.2.3. g.- ***La hemorragia intraventricular (HIV).***

Es el hallazgo más común en el cerebro de los niños prematuros fallecidos en la primera semana de vida. Las mayores contribuciones al daño del Sistema Nervioso Central (SNC) son producidas por traumatismos o mecanismos de isquemia-reperusión. Los radicales libres están de nuevo presentes en esta patología. La liberación de ácidos grasos libres coincide y se correlaciona con la extensión de la isquemia. La activación de la vía del metabolismo de los eicosanoides⁴⁹⁷ ocurre simultáneamente, además de un incremento de hierro, que potencian secundariamente la formación de productos derivados de la peroxidación lipídica.

Este incremento oxidativo, así como la pérdida de varios antioxidantes demuestran la evidencia indirecta de los radicales libres en la participación de la agresión en el SNC³⁴³.

En estudios experimentales, tras isquemia-reperusión, se evidenció un acúmulo evidente de $O_2^{\cdot-}$ durante la fase de reperusión, así como una vasodilatación persistente con imposibilidad de vasoespasmo, que mejoró tras la administración de superóxido dismutasa, lo que refuerza el papel de los oxiradicales. Tanto la superóxido dismutasa, como la catalasa y la desferroxamina se han utilizado por sus propiedades antioxidantes para prevenir estas consecuencias³⁴³.

La aplicación de este modelo de asfixia-reoxigenación en cerdos recién nacidos, demostró un incremento del 420% en la producción de $O_2^{\cdot-}$ durante la reperfusión, habiendo incluso administrado indometacina para inhibir la participación de la prostaglandina endoperóxido sintetasa.

En neonatos prematuros con mala evolución se ha demostrado un incremento de XO plasmática, así como productos derivados de la peroxidación lipídica durante las primeras cuatro horas de vida, en comparación con niños controles.

6.9.2.3. h. Fenilcetonuria.

La fenilcetonuria es un trastorno autosómico recesivo causado por una deficiencia en el sistema de hidroxilación de la fenilalanina, caracterizándose por un bloqueo en la conversión de fenilalanina a tirosina. Los trabajos de Martínez-Cruz et al. en ratas muestran cómo la fenilcetonuria induce un estado de estrés oxidativo que de alguna manera se relaciona con el daño cerebral y en el resto de órganos y aparatos que conlleva este error innato del metabolismo.

6.9.2.3. i. Síndrome de muerte súbita.

En 1999, Reid y Tervit realizaron un estudio en el que estudiaron la relación del síndrome de la muerte súbita del lactante con el estrés oxidativo, en el que apuntaron dos aspectos importantes:

1) durante el desarrollo postnatal normal hay una disminución gradual de la superóxido dismutasa dependiente de cobre y de zinc y de la glutatión peroxidasa en neuronas inmunorreactivas del hipocampo y del giro de parahipocampo.

2) se ha observado un aumento en el número total de neuronas inmunorreactivas en los niños que sufren muerte súbita a los 6 meses de edad en comparación con los controles. El aumento de la superóxido dismutasa fue significativo, no ocurriendo igual con el aumento de la glutatión peroxidasa, este desbalance es crucial en la prevención de la toxicidad por radicales libres.

La hipótesis de que un aumento de la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa puede producir en el desarrollo postnatal precoz un incremento de la muerte neuronal en neuronas reactivas, indica una fuerte regulación de los genes que expresan a las enzimas durante una exposición importante a estrés oxidativo tras el nacimiento. El metabolismo de la glutatión dependiente de peróxido se enlaza en la vía de las pentosas fosfato con la NADPH dependiente de glutatión reductasa. La glutatión peroxidasa es un reprimidor del selenio, una enzima que junto con la catalasa, la superóxido dismutasa y la vitamina E protege a las células de los cambios por radicales libres⁴⁰⁸.

6.9.3. BIOMARCADORES.

El aumento de la peroxidación lipídica y la disminución de la actividad antioxidante puede contribuir al desarrollo de complicaciones durante el embarazo, y clínicamente podría emplearse como marcador para cuantificar la actividad de los radicales libres, y del pronóstico de la gestación³⁶².

En un estudio desarrollado en 2003 se investigó si la peroxidación lipídica juega un rol etiológico, investigando las complicaciones del embarazo por un lado, e

intentando identificar marcadores de estrés oxidativo, para ello determinaron en eritrocitos y plasma maternos en el periodo prenatal, y en sangre de cordón umbilical tras el nacimiento, las actividades de la glutatión-S-transferasa, la glutatión peroxidasa dependiente de selenio, la catalasa y concentraciones de sustancias reactivas del tiobarbitúrico³⁶².

La actividad de la glutatión-S-transferasa del eritrocito materno puede ser un indicador sensible al estrés oxidativo en gestantes con diabetes mellitus insulino dependiente antes del parto, esta misma enzima puede ser usada en sangre de cordón umbilical como biomarcador de estrés oxidativo en un súbito aumento de la oxigenación durante el parto³⁶².

Encontraron que la actividad de la glutatión-S-transferasa eritrocitaria materna era mayor en el grupo con diabetes mellitus insulino dependiente que en los controles, esta enzima es vulnerable al estrés oxidativo, ya que se puede desactivar, por ejemplo, ante la proximidad de un residuo de la oxidación de la cisterna (47-cys). Este extraño comportamiento de la glutatión-S-transferasa eritrocitaria se ha observado sólo in vitro, lo podríamos explicar con dos hipótesis, bien que se reactivase de nuevo con los mismos oxidantes, o bien con la existencia de varias isoformas de la glutatión-S-transferasa eritrocitaria, unas más estables que otras, de modo que mientras una se desactiva con los prooxidantes, otra/s se puedan activar³⁶².

La actividad de la glutatión-S-transferasa eritrocitaria, y la glutatión peroxidasa estuvieron aumentadas significativamente en los hijos de mujeres con diabetes mellitus insulino dependiente, y está última también lo estuvo en hijos de hipertensas y preeclámpticas, a la vez que disminuía la actividad de la glutatión peroxidasa dependiente de selenio y la catalasa. Las alteraciones de la actividad enzimática se acompañaron de un aumento también significativo de sustancias reactivas del tiobarbitúrico, lo que podría interpretarse como un mecanismo compensatorio de la enzima para defenderse del aumento de peróxido de hidrógeno³⁶².

En cambio, otros autores²²⁸ han evidenciado no sólo niveles de peroxidación lipídica mayores en hijos de hipertensas con hipertensión inducida por el embarazo que en los controles, sino también una actividad disminuida de la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, concluyendo que las alteraciones del sistema antioxidante tienen influencia en la patogénesis de la hipertensión inducida por el embarazo, y ésta a su vez en el status oxidativo del feto.

Otro biomarcador de estrés oxidativo descrito ha sido el 8-hidroxideoxiguanosina urinario en niños de bajo peso extremo, pero se trata de un estudio de sólo 50 casos, con grandes discrepancias en cuanto al peso de los casos recogidos, con lo que los resultados no son concluyentes²⁹⁹.

Estos biomarcadores también se pueden usar para monitorizar la eficiencia de la suplementación con antioxidantes en embarazos complicados. Recientemente se han realizado numerosos estudios sobre la suplementación con vitaminas C y/o E como profilaxis frente a la preeclampsia y a la diabetes mellitus en modelos animales, la suplementación podría proporcionar una prevención o una atenuación de los riesgos malformativos en estas gestaciones³⁶².

7. DESARROLLO PSICOMOTOR Y SOCIEDAD.

Las escalas de desarrollo del niño nacieron a partir de la necesidad práctica de detectar a los niños susceptibles de presentar algunas dificultades en el transcurso de su desarrollo, para identificar a la anomalía y cuantificar los retrasos del desarrollo, nos proporciona la alerta para determinar las condiciones favorables que el ambiente debe proporcionar al niño a lo largo de su desarrollo, y para detener condiciones molestas que podrían haber pasado desapercibidas. El test del Brunet-Lèzine es uno de los diez más utilizados actualmente en la psicología clínica, sobre todo en Francia, ya que es rigurosa y fácil de aplicar. Está caracterizado por unas pruebas muy claras, de técnica fácil, que exige el material más simple posible, da lugar a un comportamiento inmediato e inequívoco, y por preguntas dirigidas a la madre sobre aquellos comportamientos imposibles de provocar artificialmente, y que son de gran importancia para juzgar el desarrollo.

El desarrollo del niño pequeño se suele producir por saltos y en escalones, por lo que los momentos son del todo sincrónicos en los diferentes sectores de su actividad. Pueden existir, por tanto, compensaciones o acumulaciones bien de progreso o bien en su estado latente. La evolución mental del niño no está estrechamente unida a la maduración psicofisiológica de sus funciones, sino que depende también del medio en que puede encontrar condiciones variantes de expansión.

La escala del Brunet-Lèzine preparó el terreno para la investigación, sin desmentir las distintas aproximaciones contemporáneas del desarrollo, innovó en tres puntos:

- la preocupación por la claridad y la simplicidad.
- énfasis de la influencia del medio en el desarrollo.
- tiene en cuenta las variaciones interindividuales y la creatividad propia de cada niño.

El desarrollo psicomotor del niño se puede ver afectado por numerosos factores, como iremos desglosando más adelante, entre ellos, el nivel educacional de sus padres. En 1975, Ivanans²¹⁹ afirmó que un alto nivel educacional en los padres se expresaba en altos coeficientes de desarrollo en sus hijos determinado mediante el test de Brunet-Lèzine, y que éste era independientemente de la etnia a la que perteneciesen.

La posición en que se deja descansar al niño también puede afectar al desarrollo, algunos autores han descrito anomalías como una disminución muscular y un retraso en las funciones motoras en los niños que se dejan descansar en decúbito prono¹²⁵, determinadas en 71 niños a los que se les aplicó la Escala de Desarrollo Psicomotor de Brunet-Lèzine, y la Evaluación Neurológica Infantil de Amiel-Tison a los 3, 5 y 9 meses de edad. La postura es una de las primeras intervenciones que se realizan al recién nacido, algo tan sencillo como los cambios de postura frecuentes podría ser una intervención muy positiva.

Los niños con trastornos neurológicos tienen un desarrollo somático menor, sin embargo, en un estudio relacionado con el desarrollo neurológico en neonatos ingresados en UCI-neonatal y crecimiento o supervivencia de los niños a los dos años

realizado en 2001⁴³¹, la mayoría de los niños tuvieron patrones de desarrollo normales, coinciden con otros autores²³⁷ en que es necesario prestar una atención especial, al menos en el primer año de vida, a los niños de 1500 gr. o menos en el momento del nacimiento, o que presenten riesgo neurosensorial^{350 431}. No obstante, en un estudio con dos años de seguimiento desarrollado en 2006 en grandes prematuros, obtuvieron resultados muy pobres que dependían fundamentalmente del nivel sociocultural de la familia y de la presencia de anomalías severas en la eco craneal¹⁴². Por otra parte, del seguimiento en edad escolar de niños con ausencia de flujo diastólico, o flujo diastólico reverso en la etapa neonatal, se han arrojado datos como que estos niños no ven afectado su desarrollo neurológico, aunque sí se han encontrado problemas en la edad escolar⁴⁵².

La competencia del vocabulario precoz es corresponde con la competencia social. Los test de Apgar bajos y la necesidad de ingreso en UCI-neonatal están asociados con el retraso del lenguaje, al igual que los niveles educacionales y de vocabulario disminuidos en los padres²⁹⁶. En los niños tardíos para comenzar a hablar, o de rapidez mediana, se pueden encontrar trastornos neurológicos menores, son niños que precisarán de un seguimiento posterior en la etapa escolar, y son propensos a presentar ciertas dificultades académicas, especialmente con la Literatura²⁹⁶. También se han descrito anomalías físicas menores en niños con problemas de hiperactividad²⁷³.

La evaluación del desarrollo se ha implicado en estudios de comportamiento criminal, los cuales se encuentran en discusión. Se ha encontrado una correlación negativa a todas las edades del rol del retraso del lenguaje en el comportamiento criminal⁴⁶⁸, también se ha encontrado cierta asociación del tiempo de ligadura del cordón umbilical con los patrones de comportamiento de niños, especialmente en lo referido al sueño, pero eran grupos muy reducidos (aproximadamente unos 20 casos) para poder obtener resultados concluyentes⁴⁹¹.

La posibilidad de que el ejercicio regular durante el embarazo pueda tener efecto en el desarrollo infantil, es un tema que ha preocupado desde siempre, por ello se realizó un estudio en 1996 en mujeres que continuaron realizando ejercicio de forma regular durante el embarazo, encontraron un crecimiento y un desarrollo normales en el primer año de vida¹¹⁰, y a los 5 años de edad, las habilidades académicas, motoras e integrativas fueron similares en ambos grupos, sin embargo, los hijos de mujeres deportistas obtuvieron mejores resultados en las Escalas de Wechsler y en los test orales de habilidades lingüísticas¹⁰⁹.

Con la introducción de las nuevas técnicas de reproducción asistida ha surgido la duda de la inocuidad de técnicas como si la microinyección espermática intracitoplasmática puede provocar a posteriori trastornos del desarrollo, los cuales no se han podido demostrar con los estudios realizados hasta el momento³⁸⁸.

7.1. DESARROLLO INFANTIL, ESTADO DE SALUD MATERNO Y AMBIENTE.

7.1.1. DESARROLLO INFANTIL Y TRANSTORNOS METABÓLICOS.

El desarrollo infantil se puede ver afectado por numerosos factores, muchos de ellos subclínicos. Numerosos autores han estudiado la influencia de patologías como los trastornos metabólicos maternos durante la gestación en el desarrollo psicomotor, como la disfunción tiroidea, Radetti et al³⁹⁹, no pudo demostrar que el hipotiroidismo subclínico en la gestación precoz causara efectos adversos audiológicos o en el desarrollo psicomotor.

Kainer et al en 1997²³¹, realizó un estudio en fetos y en niños hijos de diabéticas tipo I mal controladas, en las que investigó sus movimientos generales. Encontró tanto en niños como en fetos, que eran más frecuentes los test con movimientos anormales en los hijos de mujeres diabéticas que en los controles, con lo que concluyeron que la diabetes mellitus insulínica puede tener un impacto negativo en la movilidad ya prenatalmente.

Ornoy, Wolf, y sus colaboradores³⁶³ realizaron un trabajo en 1999 en el que investigaron el desarrollo alcanzado en niños en edad preescolar, cuyas madres padecieron diabetes gestacional durante el embarazo. Concluyeron que la diabetes gestacional puede inducir déficits neurológicos menores que son más pronunciados en edades tempranas, no pudieron demostrar una relación directa entre la aparición de anomalías congénitas y los resultados de desarrollo neurológico. En 2002, Rehan⁴⁰⁷ investigó recién nacidos de muy bajo peso (<1500gr) hijos de madres diabéticas, sin encontrar diferencias en cuanto a los cocientes de desarrollo, prevalencia de alteraciones en el desarrollo mental. Concluyeron que esto se podría deber tanto a la mejoría de los cuidados durante la gestación como perinatales.

Brand et al en un estudio realizado en 2005, investigó el proceso contrario, encontrando que los niños con enfermedades que cursan con hipoglucemias no presentaban problemas psicomotores ni de desarrollo a los 4 años de edad⁶².

7.1.2. DESARROLLO INFANTIL Y EPILEPSIA.

Se ha estudiado el desarrollo psicomotor mediante exámenes de Brunet-Lézine en hijos de mujeres epilépticas tratadas con anticonvulsivantes durante la gestación a los 7 días, 4 semanas, 13 semanas, 6 meses y 30 meses de vida³⁷⁰. Entre los 9 y los 12 meses el examen neurológico permanece “silente”, siendo los movimientos generales el mejor predictor de desarrollo. Se ha demostrado que estos movimientos generales a los 4 meses de edad están fuertemente relacionados con los resultados del test de Brunet-Lézine a los 30 meses de edad.

7.1.3. DESARROLLO INFANTIL Y ADICCIONES.

Como ya hemos comentado anteriormente, fumar durante el embarazo aumenta el riesgo de daño oxidativo, de CIR, puede alterar el crecimiento y además el desarrollo postnatal²⁶⁴. El tejido placentario protege al feto pero no lo suficiente, la actividad antioxidante del cordón umbilical también es insuficiente para detoxificar los radicales libres. Los hijos de mujeres fumadoras tienen mayor concentración de peróxidos lipídicos en los tejidos placentarios que los hijos de no fumadoras, siendo a su vez menores la actividad de la superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa y los niveles plasmáticos de vitaminas A, E, carotenos, así como la capacidad antioxidante total del plasma^{104 264}.

El consumo materno de etanol también puede inducir estrés oxidativo en los tejidos fetales, siendo el responsable de los daños producidos. El feto está especialmente predispuesto al daño oxidativo causado por la acumulación de productos tóxicos del aldehído procedentes de la peroxidación lipídica por su menor defensa antioxidante, y por las altas concentraciones de hierro y de cobre que se pueden encontrar en los tejidos fetales¹⁹⁷. Mediante modelos animales y estudios epidemiológicos moleculares, se han investigado los alelos de las enzimas implicadas en el metabolismo del etanol (ADH y CYP2E1), habiéndose encontrado polimorfismos genéticos, lo que podría explicar que sólo el 10% de los hijos de madres alcohólicas desarrollen el síndrome alcohólico fetal¹⁶⁰. El etanol, a concentraciones farmacológicas, inhibe la actividad de la molécula de adhesión celular L1 por medio de la proteinkinasa mitógena activada, lo que ha sido implicado en la patogénesis de los trastornos del desarrollo causados por el síndrome alcohólico fetal⁴⁸³.

El abuso del alcohol en el embarazo puede tener diferentes resultados, se ha demostrado que el abuso en el primer trimestre puede afectar al cociente intelectual de los niños a los 7 años de edad²²³, se encontraron subgrupos de niños más afectados entre los hijos de alcohólicas de mayor edad. Algunos autores han apuntado los beneficios de la terapia antioxidante en el periodo postnatal precoz para paliar la insuficiente defensa antioxidante causada por el etanol¹⁹⁶.

Se ha descrito la determinación de etilanolato en meconio como marcador de la exposición prenatal al etanol, para determinar precozmente posibles alteraciones del desarrollo, aunque su uso no está validado aún³⁵.

En un estudio longitudinal realizado en 2004³⁴⁵ sobre cocaína, anemia y resultados de desarrollo neurológico, para el cual se emplearon los Índices de Desarrollo Mental y Motor de Bayley a los 2 años de edad, y la Escala de Inteligencia Preescolar y Primaria de Wechsler con la Escala de Desarrollo Psicomotor a los 4 años, se encontró que las tasas de anemia ferropénica a los 4 años de edad era mayor en los hijos de cocainómanas que en los controles, mientras que a los 2 años de edad estas diferencias no alcanzaron la significación estadística. Por otra parte, a los dos años de edad, la anemia ferropénica sí se asoció de forma significativa con peores resultados de desarrollo psicomotor. Concluyeron que es importante controlar la anemia en estos niños para poder evitar trastornos del desarrollo.

7.1.4. DESARROLLO INFANTIL Y AMBIENTE.

La contaminación ambiental también puede afectar al desarrollo psicomotor del niño desde la etapa prenatal, por ejemplo, la exposición intraútero a PCBs (presente en alimentos contaminados como el pescado) puede causar déficits potenciales en el desarrollo neurológico⁴⁴⁶.

Hay escasa información sobre los efectos de la exposición prenatal al manganeso en el lugar de trabajo, aunque sí se ha relacionado con enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson, podría afectar al desarrollo psicomotor precoz⁴⁸¹.

En un estudio piloto de desarrollo neurológico realizado en niños sometidos a exposición intraútero a metil-mercurio procedente de pescado contaminado ingerido por sus madres, se encontró mediante un análisis multivariante una asociación entre la exposición fetal al metilmercurio y los resultados en los test de desarrollo³³².

7.2. DESARROLLO INFANTIL EN SITUACIONES PATOLÓGICAS.

7.2.1. COMPLICACIONES EN EL PERIODO PRENATAL.

7.2.1.1. Prematuridad.

Tres decenios de investigación sobre la eficacia de los programas de intervención en prematuros han producido pruebas sustantivas de que, en general, la intervención proporciona un efecto favorable en el desarrollo ulterior, dado que estos lactantes evolucionan mejor que los controles, dentro de los amplios límites de variabilidad que hemos de instaurar¹³⁹. Se han podido encontrar suposiciones antagónicas sobre si los prematuros que sufrieron privación de estímulos sensitivos fueron programados o no para recibirlos intraútero, o si, por el contrario han sufrido una sobrecarga de información sensitiva que no pueden procesar de una forma adecuada al no encontrarse dentro de un ambiente intrauterino amortiguador¹³⁹.

En los últimos años hemos asistido a un aumento importante de los casos de grandes prematuros sin que aumente a su vez la morbilidad del desarrollo, según diversos estudios, esto se debe a la mejora de los cuidados pre y postnatales^{243 257 534}. Se ha estudiado la posibilidad de la administración de sustancias para evitar el daño neurológico en estos niños, como por ejemplo pueden ser el oxígeno, el cual no ha demostrado sus beneficios en cuanto al crecimiento y el desarrollo¹⁶, y la hormona tiroidea, al respecto hay una revisión Cochranne³⁶⁶ que concluye que su uso no demuestra que disminuya la mortalidad ni la morbilidad perinatal, así como que no mejora los resultados de desarrollo neurológico, con lo cual su uso debería hacerse con cautela. El uso de las hormonas tiroideas se basa en que éstas son esenciales para la maduración cerebral, y en los grandes prematuros se han encontrado en las primeras semanas de vida unas concentraciones menores de T₄ y fT₄, de ahí que se atribuyera a la hipotiroxinemia los problemas de desarrollo neurológico⁵⁰⁸ que después no se ha podido demostrar que se resuelvan con la administración exógena de la hormona, aunque algunos autores han apuntado posibles beneficios en los recién nacidos de menos de 27 semanas³⁸.

También se han investigado sustancias en prematuros como ácido ascórbico, donde se encontró una correlación positiva entre éste y el peso en el nacimiento¹⁸²

Siguiendo la evolución de estos niños prematuros a los dos años de edad en los test de comportamiento los prematuros eran menos certeros, menos atentos y menos pacientes que los controles, según el test de Bayley. Los resultados bajos en este test se correlacionaron con poca persistencia, un aumento del umbral en los test de conducta (o comportamiento) o peor orientación social, tono emotivo negativo, peor cooperación y escasa atención⁴³⁷.

El perfil de desarrollo de niños nacidos prematuramente cuando alcanzan la edad escolar, comparado con niños nacidos a término, refleja anomalías de desarrollo entre las cuales, las más frecuentes son los problemas motores (finos y gruesos) dificultades visuales (motoras y espaciales)^{198 371}, dificultades cognitivas⁷⁹, o necesidad de educación especial³¹⁹. Ante la ausencia de problemas mayores, los que más frecuentemente se registraron fueron los problemas visuales-espaciales y oftalmológicos¹⁹⁸. Los problemas de lenguaje, al contrario de lo que se ha pensado siempre, no se han relacionado con problemas auditivos (de memoria auditiva)^{198 371}. Si además tienen algún factor añadido como flujo diastólico ausente o reverso en la arteria umbilical, presentarán mayor riesgo de retraso mental y de trastornos motores severos que los prematuros de su misma edad gestacional sin estos problemas^{298 516}.

En otros estudios donde se realizó un análisis cuantitativo y cualitativo de las habilidades neuromusculares de estos niños prematuros a los 5 años de edad¹³⁸, no se encontraron problemas neuromusculares ni grandes diferencias entre ambos grupos, únicamente se pudo apreciar deficiencias menores en la coordinación intermuscular

Si seguimos estos niños hasta la adolescencia, se ha documentado un aparente deterioro en el desarrollo neurológico, en la función cognitiva, y en el soporte extra educacional. Pero no está claro si se trata de un deterioro en la función neurocognitiva, o bien si representa la expresión de una patología cerebral preexistente que empeora en un medio ambiente complejo³⁵¹. Si se ha asociado el status de desarrollo neurológico alcanzado por estos niños prematuros en el primer año de edad con los resultados neuropsiquiátricos en la adolescencia⁴²⁹.

7.2.1.2. Bajo peso en el nacimiento.

El nacimiento de un niño de bajo peso extremo en una familia tiene un importante impacto en la vida familiar, especialmente en lo relacionado con el desarrollo y con las enfermedades crónicas¹²⁷. En un estudio desarrollado en 1995⁴⁶⁷ con dos años de seguimiento, en que se analizaban los factores perinatales causantes de alteraciones en el desarrollo neurológico en estos niños, los únicos factores que se han asociado directamente fueron la hemorragia del tercer trimestre, el escaso control prenatal de la gestación y el estatus socioeconómico y educacional de la madre. La acidosis neonatal (pH menor de 7,2) en las primeras 24 horas de vida y el género masculino fueron los únicos factores de riesgo adicionales significativos. También se han utilizado los potenciales evocados somatosensoriales como predictor de trastornos en el desarrollo neurológico en niños de bajo peso cuando alcanzan la edad escolar²⁸⁸

Tradicionalmente se ha dado por echo que los niños que nacían con pesos inferiores a 2000 gamos tendrían problemas de desarrollo que serían patentes incluso en la etapa escolar^{172 319}, en cambio, en los últimos años este concepto ha cambiado mucho como ya apuntábamos anteriormente^{243 257 534}.

En un estudio realizado en 1987 sobre 57 niños de 5 años de edad que nacieron con 1500 gramos o menos de peso¹⁹, casi la mitad de ellos presentaron déficits de atención a los 2 años de edad, la estadística disminuía a los 5 años de forma significativa, a esta edad sí se encontró una proporción significativamente mayor de problemas verbales, de inteligencia, y de discapacidades físicas menores que en los controles. En estudios en los que se realizó seguimiento hasta la adolescencia tardía, se

encontró que estos niños tenían más riesgo de resultados académicos más bajos que los que nacían con un peso adecuado a la edad gestacional³⁷⁴.

Cuando los dividieron según las clases sociales a las que pertenecían, éstas no tuvieron tanto poder predictor como el peso en el nacimiento, no coinciden otros autores^{142 226} en estudios realizados en 2004 y 2006 donde encontraron más poder predictor en el nivel sociocultural de los padres que en el peso al nacimiento, o al menos una asociación específica con los grupos socioeconómicos. Esto nos podría llevar de nuevo a la mejoría en los cuidados pre y postnatales^{243 257 534} y la adherencia de los padres a los diversos tratamientos .

Los niños de muy bajo peso en el momento del nacimiento tienen mayor riesgo de presentar problemas verbales y de coeficiente intelectual, problemas cognitivos³²⁰, lo que implica graves problemas de aprendizaje. No obstante, en la literatura se pueden encontrar trabajos en los que sólo los niños prematuros con hemorragia intraventricular tienen peores resultados en el test “Peabody Picture Vocabulary”, lo que mejora con el tiempo y el tratamiento³⁰⁶.

7.2.1.3. Acidosis fetal. Anoxia-hipoxemia.

Los niños con pH menor de 7³³⁵ o menor de 7,2 como apuntan otros autores⁴⁶⁷ en sangre de arteria umbilical tienen mayor riesgo de morbilidad a corto plazo, si consiguen abandonar la UCI neonatal sin problemas mayores tendrán mejor pronóstico³³⁵, de modo que al llegar a los 4 años de edad, el status ácido-base en el momento del nacimiento y la caracterización de los movimientos generales a los 3 meses de edad, no tienen relevancia clínica⁵³³. No obstante se han encontrado en niños pH al nacimiento menor o igual a 7, peores resultados en el test de Brunet-Lèzine , signos de una posible lesión visoconstructiva en niños a los 6 años de edad³⁹².

7.2.2. COMPLICACIONES EN EL PERIODO NEONATAL.

7.2.2.1. Infecciones.

Los trastornos del desarrollo se han asociado con diversas infecciones congénitas, como la infección por Parvovirus B19, con un nivel de evidencia III³³⁴, o los niños infectados con el virus del VIH mediante transmisión vertical^{69 128}.

7.2.2.2. Patología pulmonar.

La enfermedad pulmonar crónica tiene un efecto definitivo en el desarrollo motor, la influencia que pueda tener esta patología se desconoce, se han descrito efectos deletéreos en la coordinación y en el control de manos y ojos²³⁸ por ello es necesario el seguimiento de estos niños independientemente de que presenten o no lesiones neurológicas^{46 238 295 552}. Otros autores han afirmado que patologías como la membrana hialina no tienen relación con los efectos de desarrollo de los recién nacidos⁴³, no obstante, los resultados dependerán de muchos factores de riesgo, de la severidad de la enfermedad, y de otros procesos asociados³²⁵.

Para el tratamiento de la patología pulmonar se emplean técnicas que han sido ampliamente discutidas por sus efectos adversos a largo plazo como la oxigenación mediante membrana extracorpórea, no obstante diversos estudios han demostrado que la morbilidad de los niños sometidos a esta técnica dependía más de la severidad del cuadro por el cual la precisaban de la propia técnica¹⁴⁴, por lo tanto probablemente debería de investigarse la estancia media hospitalaria, que estará relacionada con la severidad del cuadro clínico³⁴⁸. Aún se desconocen los efectos que pueden tener a largo plazo en el desarrollo del niño técnicas de primera elección, como cámaras de aire al 100% de oxígeno para la resucitación de recién nacidos deprimidos, que disminuyen la tasa de mortalidad neonatal³⁹⁸. Pero también existe la contrapartida de que los mejores sistemas de respiración artificial tendrán mejores tasa de supervivencia, y por lo tanto mayores incidencias de defectos neurológicos².

7.2.2.3. Hemorragia peri o intraventricular.

La estimulación precoz beneficia mucho a los pacientes con patología neurológica como parálisis cerebral, y retraso psicomotor¹⁵⁷, no se ha demostrado, si se individualizan los casos de hemorragia peri o intraventricular, que estos niños tengan peores resultados en los test de desarrollo, pero sí que se dificulta el desarrollo en general²⁸¹.

7.2.2.4. Enterocolitis necrotizante.

El manejo médico de esta patología no supone un riesgo adicional para el desarrollo psicomotor del niño, mientras que el tratamiento quirúrgico de la enterocolitis necrotizante sí se ha asociado con un retraso del crecimiento y con resultados adversos en el desarrollo de estos niños con respecto a los sanos a los 18 y 22 meses de edad corregida, no obstante, la cirugía queda reservada para casos muy graves²⁰¹.

7.2.2.5. Enfermedades congénitas.

Es bien conocido que el hipotiroidismo fetal y neonatal tiene diferentes efectos en la maduración cerebral en los dos primeros años de vida pudiendo provocar déficits neurocognitivos^{7 368}. La hipotiroxinemia del prematuro se debe a la inmadurez del eje hipotálamo-hipofisario-tiroideo, la realización de estudios dinámicos de la función tiroidea en prematuros han llevado a pensar que la hipotiroxinemia puede ser a la vez fisiológica y patológica, con lo cual sólo los recién nacidos prematuros de menos de 27 semanas de edad gestacional se beneficiarían de un tratamiento tiroideo³⁸. En un estudio sobre la efectividad del tratamiento con tiroxina en niños nacidos antes de la semana 30 de gestación, y su posible relación con el desarrollo infantil se encontraron peores resultados a los 2 y a los 5 años de edad en los niños que no habían sido tratados⁵⁰⁷.

Por otra parte, la hiperinsulinemia también se ha asociado con peores resultados en los test de desarrollo, más importante cuanto más severo es el cuadro clínico, la cirugía extensiva precoz puede mejorar el pronóstico significativamente en los casos más graves²²⁰. Por el contrario, algunos autores afirman que la hipoglucemia no tiene efectos en el desarrollo psicomotor⁶².

El tratamiento de patologías como la trombocitopenia autoinmune fetal y neonatal mejora ostensiblemente el pronóstico de desarrollo de estos niños a medida que se normaliza el recuento de plaquetas, hasta el punto que se especula si las plaquetas tendrían un papel en el desarrollo del feto⁵²⁴. En cambio, en procesos como el síndrome de Di George, los niños tratados mediante cirugía tienen peores resultados de desarrollo, lo cual no es atribuible por sí solo a su condición cardíaca o al tratamiento, pero sí puede condicionar la indicación¹⁶¹.

La anemia de células falciformes y el síndrome de Pierson también pueden condicionar mayor riesgo de retraso en el desarrollo neurológico de estos niños con respecto a los controles^{205 543}.

El autismo se ha asociado con altas producciones de óxido nítrico⁵⁶³, podrían tener su origen en unos sistemas de defensa antioxidante anormales que afectasen a los procesos de desarrollo neurológico. Se ha encontrado que la actividad de la superóxido dismutasa eritrocitaria y la glutatión peroxidasa eritrocitaria y plasmática es menor en los niños con estos trastornos que en los controles, estos resultados indican que los niños autistas tienen menores niveles de actividad de las enzimas antioxidantes en sangre⁵⁵⁵.

7.2.2.6. Malformaciones.

Es fundamental realizar estudios de desarrollo en los niños con problemas malformativos cardíacos¹⁴⁴, dada su gran vulnerabilidad; el soporte vital mediante un by-pass de bajo flujo cardiopulmonar durante la cirugía cardíaca en la infancia se ha asociado con déficits de desarrollo neurológico⁴⁰.

Métodos como la oxigenación mediante membrana extracorpórea se han asociado con una mayor incidencia de déficits auditivos cuando se emplea previa a la cirugía para la reparación de la hernia diafragmática congénita, frente a cuando se precisa tras la cirugía⁴⁰⁴. La etiología es desconocida, podría deberse a un periodo de hiperventilación prolongado o a los cuidados intensivos⁴⁰⁴.

Otros eventos malformativos como la mayoría de los quistes en los plexos coroideos se resuelven espontáneamente, su aparición aislada no se asocia con hallazgos físicos anormales ni con retrasos en el desarrollo precoz²¹³. Tampoco se ha asociado el scalp cefálico con los trastornos del desarrollo, ya que no se asocia con fallos en el flujo cerebral, se trata sólo de un defecto estético¹⁵.

La ventriculomegalia cerebral en niños prematuros es consecuencia de la vulnerabilidad del desarrollo cerebral, sin embargo, según Ment et al³⁰⁷ es un predictor independiente e importante del desarrollo cognitivo y motor adverso a los 4 años y medio de edad corregida. Los niños que presentan ventriculomegalia moderada y aislada tendrán mejor pronóstico que el resto³⁹.

7.3. DETERMINANTES DE LABORATORIO DEL DESARROLLO.

El laboratorio puede ser útil para predecir la supervivencia y los resultados de desarrollo neurológico en el periodo neonatal de niños de alto riesgo, ya sea el screening prenatal de anomalías cromosómicas, o el del recién nacido de metabolopatías. Unos valores anormales en el periodo neonatal de bilirrubina, glucosa, pH... etc. Pueden ser factores de riesgo de muerte y de alteraciones del desarrollo⁴⁷⁸.

Como ya hemos comentado anteriormente, la hipotiroxinemia en el screening inicial del recién nacido, aunque sea transitoria, se ha asociado no sólo con alteraciones del desarrollo, sino también con una alta tasa de muerte y de hemorragia intraventricular³⁷², no obstante se precisan nuevos estudios para determinar si estos niveles contribuyen al desarrollo neurológico o si simplemente se trata de un factor asociado³⁷². En niños prematuros, la hipotiroxinemia se ha asociado con peores resultados de desarrollo neurológico que persisten a los 2 y a los 5 años de edad⁵⁰⁷. Algunos autores afirman que la suplementación con tiroxina en prematuros es efectiva sólo en los nacidos antes de la semana de gestación 27³⁸.

La concentración de lactato cerebral tras la asfixia en el nacimiento, se empleó para investigar las alteraciones severas del desarrollo tras procesos de hipoxia-isquemia¹⁹³. Las concentraciones de lactato al mes de vida fueron mayores en los niños con resultados en los test de desarrollo anormales, que en los niños con desarrollos normales. Esto indica que el proceso patológico post-asfixia, determinado mediante la persistencia de lactato cerebral, no está limitado al periodo inmediato tras el daño. También podemos emplear las concentraciones de lactato plasmático para predecir la mortalidad precoz y los resultados adversos, lo cual nos puede ayudar a la toma de decisiones y a obtener una información precoz sobre el pronóstico¹⁰⁶.

La hiperbilirrubinemia extrema en neonatos también puede ser empleada a este efecto, en un estudio desarrollado en neonatos de Zimbagua se encontró que las concentraciones de bilirrubina total superiores a 400µmol/l (23,4 mg/dl) se asociaron con test de desarrollo anormales a los 4 meses de edad, la mitad de ellos tuvieron síntomas neurológicos irreversibles⁵³⁹. En otro estudio desarrollado en Zimbagua en 1998 se investigó el status neurológico en recién nacidos con ictericia severa, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el desarrollo neurológico y la concentración total de bilirrubina⁵⁴⁰. Según autores como Ip et al²¹⁸ es inadecuado utilizar solamente los valores de bilirrubina para predecir resultados a largo plazo, ya que influyen otros muchos factores.

Se ha relacionado el recuento e reticulocitos y los niveles de eritropoyetina con condiciones patológicas en el periodo neonatal^{76 512}, incluso puede ayudar a predecir resultados neurológicos a corto plazo⁵¹², no obstante, un estudio desarrollado en 2003 investigó la posible relación del recuento de reticulocitos en el momento del nacimiento tras depresión perinatal con el desarrollo psicomotor a los 30 meses de edad. Los resultados anormales se asociaron con la disminución del ratio N-acetil-aspartato/colina y el aumento del ratio lactato/colina en los ganglios basales, pero no se encontró asociación con el recuento de reticulocitos¹⁹¹.

También se ha señalado al hierro libre como marcador predictivo precoz del daño cerebral neonatal, así niveles inferiores a 1,16 micromol/l tienen mejores resultados de desarrollo que los niveles superiores a este valor⁷⁷.

7.4. SUSTANCIAS IMPLICADAS EN EL DESARROLLO.

7.4.1. INHALACIÓN DE NO.

La inhalación de NO por parte de recién nacidos a término o próximos al término con fallo respiratorio hipóxico no se ha asociado con daño neurológico a los 18 y 24 meses de edad²⁵⁰, en cambio, en recién nacidos prematuros con alto riesgo de displasia broncopulmonar ha demostrado mejorar los resultados pulmonares cuando se usa entre el séptimo y el vigésimo primer día de edad sin efectos adversos aparentes²⁸. En una revisión Cochrane de 2006 sobre siete ensayos clínicos randomizados se estudió si el tratamiento con NO inhalado a las dos horas de vida en prematuros mejora los resultados en cuanto a las tasa de muerte, de hemorragia intraventricular, o alteraciones en el desarrollo neurológico, se concluye que no hay suficiente evidencia científica para indicarlo en los prematuros ante el fallo respiratorio¹⁴³, incluso algunos autores²⁰³ lo han asociado con un aumento de la incidencia de hemorragia intracranial. No obstante son numerosos los estudios que lo asocian con una mejoría en el pronóstico del desarrollo a los dos años de edad³¹⁷, o el “gold Standard” en el tratamiento de la hipertensión pulmonar persistente^{52 259}, incluso la mortalidad y el desarrollo fetal estuvo relacionado con la respuesta a la terapia y ésta a su vez con la duración de la ventilación mecánica²¹⁶.

En cambio, en recién nacidos a término o próximos a término, sí se considera razonable (según una revisión Cochrane de 2006) el uso de NO inhalado para el tratamiento de la hipoxia o del fallo respiratorio excepto en casos de hernia diafragmática¹⁴³.

En cuanto a la relación coste-efectividad del óxido nítrico inhalado frente al oxígeno, algunos estudios han demostrado que los niños que recibieron NO estuvieron mejor significativamente que los sometidos a O₂, y esta diferencia fue significativa, económicamente también se prefirió al NO²²².

7.4.2. INDOMETACINA.

Los niños prematuros con hemorragia intraventricular tienen un alto riesgo de tener ciertos handicaps de desarrollo neurológico como retraso mental¹⁰⁸. El uso de la indometacina en niños de muy bajo peso se ha asociado con una disminución de las tasas de hemorragia intraventricular sin poder demostrarse efectos adversos en el desarrollo neurológico a largo plazo^{308 309} tanto motor como cognitivo¹⁰⁸.

7.4.3. NUTRICIÓN.

En un estudio comparativo realizado en 1982 en niños de bajo peso en que se analizó la importancia de la dieta en el desarrollo psicomotor, se compararon tres dietas, dos de ellas artificiales con diferentes aportes calóricos y la tercera era la lactancia materna, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el desarrollo psicomotor a los dos años de seguimiento⁴⁷⁷. No obstante, en otro estudio desarrollado en 2003 en niños de muy bajo peso, se encontró una ventaja pequeña aunque consistente en los resultados de test de desarrollo en niños alimentados con lactancia materna en comparación con la alimentación artificial. Los autores concluyeron que la lactancia

materna en prematuros puede maximizar sus ventajas potenciales de la nutrición precoz en niños de muy bajo peso³⁸³.

También se ha investigado la relación entre la nutrición materna, el peso en el nacimiento y la circunferencia cefálica, en un estudio desarrollado en 1993 se demostró que los niños prematuros y los CIR fueron hijos de madres con ciertos déficits de ácidos grasos esenciales necesarios para el desarrollo neurológico como el ácido araquidónico y el ácido docosahexaenoico, el déficit de éste último se ha asociado con los trastornos visuales y de desarrollo cognitivo, como causa de hemorragia periventricular y de bajo peso al nacimiento, luego podría ser una forma de prevención¹¹⁷.

La placenta tiene unas bajas tensiones de oxígeno, por lo que es un ambiente seguro para la concentración de ácidos grasos poliinsaturados como el ácido araquidónico y el ácido docosahexaenoico cuando son requeridos para la “construcción” del cerebro y de la retina, luego déficits nutricionales de éstos ácidos grasos durante el desarrollo fetal pueden desencadenar defectos en la estructura y en la función de las membranas neurales, o un retraso en el desarrollo visual³⁷⁸. Es muy significativo e interesante que los triglicéridos y los fosfolípidos que componen la leche materna contienen ácido araquidónico y docosahexaenoico, hasta no hace mucho, las fórmulas lácteas no contenían estos ácidos grasos. De ahí se podría deducir que los niños sometidos a lactancia materna tendrían coeficientes de desarrollo superiores a los niños alimentados mediante fórmula³⁷⁸.

Los ácidos araquidónico, eicosapentaenoico, docosahexaenoico, linooleico y α -linolenico, son los ácidos grasos poliinsaturados más relevantes en la alimentación para el crecimiento⁵. El ácido araquidónico y el docosahexaenoico son los que preferentemente se acumulan en el córtex cerebral durante la lactancia. Se ha intentado investigar el valor predictivo de la composición de los ácidos grasos en la dieta infantil en el coeficiente de desarrollo, sí se ha encontrado una asociación entre ambas a los cuatro meses de edad, pero no ha ocurrido igual con el coeficiente de desarrollo a los veinticuatro meses⁵, evaluado mediante el test de Brunet-Lèzine, que no se encontraron diferencias entre ambos grupos de dieta. Concluyen que probablemente esta ausencia de diferencias entre ambos grupos se debiera a que con el tipo de test que se empleó fuese demasiado difícil encontrar diferencias mensurables entre ambos grupos llegada esta edad.

No obstante, en un estudio desarrollado en 1995 donde se investigó el coeficiente de desarrollo, se encontró que los niños alimentados mediante leche de fórmula suplementada con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga tuvieron mejores resultados en el test de Brunet-Lèzine que los niños alimentados mediante fórmula estándar y estas diferencias fueron significativas⁶. Los niños sometidos a lactancia materna también tuvieron mejores resultados que éstos últimos. Además, las concentraciones de ácido araquidónico y de ácido docosahexaenoico en la circulación fueron mayores en los niños alimentados mediante fórmula suplementada y lactancia materna que en los alimentados mediante fórmula estándar. Por el contrario, en una revisión Cochran del año 2000 a este respecto, concluyó que había una evidencia escasa (con los ensayos clínicos disponibles hasta el momento) de que la suplementación con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en las fórmulas lácteas mejorasen el desarrollo visual o cognitivo en recién nacidos a término⁴⁵⁸.

Por otra parte, el empleo de la suplementación de las leches de fórmula con ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga en recién nacidos pretérmino no ha encontrado diferencias significativas especialmente en los recién nacidos con menos de 30 semanas de gestación¹⁴¹. Si se han encontrado mejorías en la función sensorial, en la atención visual y en los resultados de los test de desarrollo en niños prematuros cuyas leches de fórmula han sido suplementadas con linolenato⁸⁹, no se ha podido demostrar lo mismo en niños a término, probablemente porque los niños pretérmino tienen menor concentración de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga que éstos, de ahí que los beneficios observados puedan ser mayores.

La concentración de ácidos grasos omega-3 en la dieta durante la infancia precoz sí se ha relacionado con el status de desarrollo neurológico al año de edad⁵¹³.

Además se han asociado en modelos animales ácidos grasos como la L-carnitina en la profilaxis del daño cerebral tras procesos de hipoxia-isquemia⁵¹⁸, aunque se precisan estudios posteriores más amplios antes de emplearlo en humanos.

7.4.4. ANTIOXIDANTES.

Para clarificar la relación significativa entre superóxido dismutasa y óxido nítrico sintasa tempero-espacial dentro del desarrollo humano se realizó un estudio en 2001 donde se demostró la expresión inmunohistoquímica de la superóxido dismutasa 1 y 2, la óxido nítrico sintasa neuronal e inducible, y la nitrosina en el cerebro humano desde la semana 13 de gestación hasta los dos años tras el nacimiento⁴⁸⁰. Los autores concluyeron que la superóxido dismutasa 1 y 2 se mantiene en las etapas de desarrollo precoz para preparar la expresión de la óxido nítrico sintasa neuronal con el rol potencial en la diferenciación para disminuir la citotoxicidad por NO.

Patologías como la esquizofrenia se han asociado con un gran rango de anormalidades de desarrollo neurológico, estructurales y de comportamiento, lo que puede deberse tanto a factores genéticos como no genéticos, ya sean infecciones neonatales, complicaciones en el nacimiento, malnutrición materna, o abuso de sustancias durante el embarazo²⁸⁵. Experimentalmente se ha encontrado una causa de estrés metabólico celular que desemboca en un estrés oxidativo y en un aumento de las especies reactivas del oxígeno superior a la capacidad antioxidante, y es bien conocido que el sistema nervioso central es especialmente susceptible al daño producido por la hipoxia. Los factores antioxidantes de la dieta podrían mejorar los resultados, como por ejemplo los ácidos grasos omega-3 que se han asociado con mejoría clínica en etapas precoces de la esquizofrenia²⁸⁵.

Además, en niños con trastornos acústicos se han encontrado trastornos en los sistemas de defensa antioxidante como una actividad disminuida en la superóxido dismutasa eritrocitaria y en la glutatión peroxidasa eritrocitaria y plasmática⁵⁵⁵, si hubiera anomalías similares en el cerebro, la acumulación de radicales libres podría dañar el tejido cerebral.

En niños con déficits de atención e hiperactividad se han empleado como terapia el picnogenol por su capacidad de disminuir el glutatión oxidado aumentando a su vez el reducido al emplearse para normalizar el status antioxidante total en estos pacientes¹³³.

7.4.5. OTRAS SUSTANCIAS.

7.4.5. A. EPO: No ha demostrado diferencias estadísticamente significativas frente a placebo en niños de muy bajo peso tratados precozmente en cuanto a medidas antropométricas, necesidad de rehospitalización, transfusiones, o desarrollo entre los 18 y 22 meses de edad corregida³⁵⁹.

7.4.5. B. Tiroxina: Al investigar la velocidad de conducción nerviosa motora en prematuros nacidos antes de la semana treinta de gestación tratados con suplementos de L-tiroxina, no se encontraron diferencias significativas⁴⁶².

En un estudio comparativo sobre la efectividad de la tiroxina y los esteroides en la reducción de la morbilidad neonatal, a los veinte meses de tratamiento los parámetros de desarrollo tanto mental como psicomotor fueron similares en ambos grupos, no hubo diferencias en cuanto a la incidencia de las anomalías neurológicas, ninguno de los tratamientos afectó al crecimiento ni al desarrollo neurológico, aunque sí fue más frecuente el retraso del lenguaje en el grupo tratado con corticoides⁴¹².

En otro estudio anterior realizado por Briet el al⁶⁶ en 1999 evaluaron el efecto de la suplementación con 8 µgr/Kg de peso al nacimiento /24 horas frente a placebo en los resultados de comportamiento en niños de 2 años que había sido grandes prematuros. Encontraron que el grupo intervención fue más extrovertido y especialmente destructivo, fue más evidente en los varones y en los nacidos antes de la semana de gestación 27. No obstante, dentro del grupo intervención, los niños con problemas de comportamiento tenían menores concentraciones de tiroxina libre que los niños sin problemas adaptativos, luego los problemas de comportamiento que se observaron en el grupo intervención no se debieron al tratamiento.

7.4.5. C. Sulfato de Magnesio: las complicaciones maternas durante el embarazo pueden provocar una hipoxia en el cerebro fetal, lo que se asocia a un aumento del riesgo de parálisis cerebral y de leucomalacia periventricular en el recién nacido. El sulfato de magnesio protege del daño cerebral mediante la protección histológica de las células de Purkinje del cerebelo. No previene la disminución de la densidad celular en el córtex cerebral ni la disminución del tamaño celular inducido por la hipoxia materna. No interfiere en la modulación de la expresión del factor neurotrópico derivado del cerebro ni del factor de crecimiento nervioso en el córtex. El sulfato de magnesio puede prevenir los daños en la función motora, en el córtex cerebral y el hipocampo¹⁶⁹.

7.4.5.D. Dexametasona: En estudios desarrollados en animales de experimentación en 2004, se concluyó que el tratamiento neonatal con dexametasona puede alterar el comportamiento social de los animales²³³, así como disminuir el crecimiento somático, producir leves retrasos en la maduración física y en el desarrollo neurológico³³⁷, estos trastornos no se observaban al llegar a la adolescencia. También se ha descrito que produce alteraciones reversibles en la plasticidad sináptica del hipocampo y en ciertos aspectos de la memoria²⁶⁹.

7.5. MÉTODOS DIAGNÓSTICOS ELECTROFISIOLÓGICOS Y POR LA IMAGEN DE LOS TRASTORNOS DEL DESARROLLO.

¿Dónde está el límite en la resucitación de los bebés pretérminos? En los últimos años hemos asistido a una paulatina disminución de la edad gestacional con que se consigue la viabilidad fetal, pero no debemos olvidar que estos niños sobreviven con un gran handicap de desarrollo neurológico, y que en algunos casos soportarán enfermedades crónicas²⁰².

En 1979 Stave⁴⁶⁹ encontró diferencias estadísticamente significativas en el status neurológico de los niños nacidos a término frente a los nacidos pretérmino, afirmó que la estimulación precoz en los segundos no aceleraba el desarrollo de las funciones neurológicas, sino que ocurría como con otras funciones orgánicas que tenían una maduración más lenta.

Las medidas para buscar las anormalidades cerebrales o sus consecuencias en el desarrollo son múltiples, podemos buscar limitaciones funcionales o la patogénesis, el daño producido. Las técnicas de imagen son las medidas más predictoras de la patogénesis cerebral, mientras que las medidas neurológicas se focalizarán en el tono muscular, los reflejos, y otros datos del examen neurológico que son pobres predictores en los primeros meses de vida³⁶⁷.

Se ha intentado identificar determinantes mayores de resultados adversos de desarrollo neurológico en niños de 18 meses de edad con bajo peso extremo, sin obtener resultados satisfactorios⁸. No obstante, algunos autores como Roth et al⁴²⁹ afirman que el status de desarrollo neurológico alcanzado por grandes prematuros en el primer año de edad predice los resultados neuropsiquiátricos de estos niños al alcanzar la adolescencia.

7.5. a) RMN.

Se ha estudiado el valor pronóstico de la RMN en cuanto al desarrollo de recién nacidos a término que sufren una asfixia perinatal severa, los diferentes autores concluyen que la técnica posee valor pronóstico cuando se realiza en las dos primeras semanas de vida en cuanto al desarrollo posterior del niño^{180 252 432}.

7.5. b) ECO.

Otro de los factores que nos pueden servir de ayuda para investigar la función cerebral en niños pequeños es la evaluación de los movimientos generales en la etapa prenatal mediante ecografía³⁶⁷, entre las semanas 16 y 20 de gestación ya se pueden evidenciar movimientos generales anormales mediante ecografía. En los primeros meses de vida la video y electromiografía¹⁸⁷ junto con el análisis de las posibles limitaciones funcionales de los reflejos pueden ayudar al diagnóstico de la parálisis cerebral³⁶⁷.

La ecografía se ha utilizado como predictor de resultados de desarrollo neurológico y sensorial en niños con infección congénita por citomegalovirus¹⁰, donde se encontró una buena correlación entre las anormalidades halladas mediante ultrasonidos y la predicción de resultados en recién nacidos sintomáticos en el momento del nacimiento. También se ha empleado en la hemorragia intraventricular, el hallazgo casual de ésta se asocia con un buen pronóstico de desarrollo, en cambio, las lesiones en la materia blanca se han relacionado con alteraciones menores en la edad escolar¹⁸⁵,

incluso se ha encontrado peores resultados cuando las lesiones se encuentran en el hemisferio izquierdo⁵¹⁴.

En un análisis multivariante en niños con exámenes neurológicos anormales, acidosis neonatal, Apgar patológicos, monitorización cardiaca fetal anormal, o necesidad de ventilación con presiones positivas en paritorio, se encontró que los mejores factores predictores del desarrollo neurológico eran el electroencefalograma y la ecografía craneal a las 48 horas de vida⁸⁸.

7.5. c) ECO-doppler.

El doppler prenatal se utiliza para el diagnóstico del daño neurológico precoz en niños donde se objetiva una redistribución del flujo sanguíneo que se produce con el objetivo de preservar los órganos nobles³⁰¹, años antes, Bode et al⁵⁴ afirmó que el doppler no poseía tal valor pronóstico. En un estudio realizado en 2002 por Schreuder et al tampoco se encontró una asociación con peor pronóstico de desarrollo neurológico, pero sí que evidenciaron ciertos problemas en la edad escolar en los niños con redistribución del flujo en la etapa fetal⁴⁵².

7.5. d) Potenciales visuales.

Las técnicas electrofisiológicas se han usado para evaluar la maduración funcional de vías neuronales responsables de los sistemas de memoria y reconocimiento, y algunos estudios han demostrado su efectividad en niños de alto riesgo¹²¹, por ejemplo, se ha encontrado una discrepancia entre la maduración de los potenciales visuales evocados y los resultados cognitivos a los 5 años de edad en niños que fueron grandes prematuros con o sin signos de redistribución sanguínea en su etapa prenatal, ambos grupos presentaron peores resultados cognitivos a los 5 años⁴⁴⁷.

7.5. e) Electromiograma (EMG).

Nos puede ayudar a determinar defectos retinianos en la exposición prenatal al alcohol²¹¹.

7.5. f) Electroencefalograma (EEG).

En un estudio realizado en 1989, se evidenció que la maduración electromiográfica de niños prematuros que padecieron daño neurológico perinatal era significativamente menor a la de los niños prematuros que no habían padecido tal daño, de ahí se podía comenzar a intuir el valor pronóstico de la técnica en estos niños¹²⁴.

Como se ha apuntado anteriormente, algunos autores afirman que en niños de alto riesgo de padecer trastornos del desarrollo, los mejores factores predictores son el electroencefalograma y la ecografía craneal a las 48 horas de vida⁸⁸.

7.5. g) Monitorización cardiorrespiratoria.

La presencia de ciertos eventos cardiorrespiratorios convencionales se han asociado con una disminución con respecto a la media en el índice de desarrollo mental tanto en niños a término como en pretérminos²¹⁴

CAPÍTULO III

- HIPÓTESIS DE TRABAJO

- OBJETIVOS

8. HIPÓTESIS DE TRABAJO .

Los mamíferos presentan la tendencia natural de no ligar el cordón umbilical tras el parto hasta que de forma espontánea se interrumpa la circulación sanguínea desde la placenta hacia el feto. Como anteriormente se ha expuesto, al examinar la literatura observamos que los resultados revisados en la bibliografía son francamente contradictorios encontrando conclusiones contundentes a favor y/o en contra de los dos tipos de ligadura estudiados (precoz y tardía), con lo que podemos dilucidar que las diferentes investigaciones no están controladas ni bien diseñadas. Parece quimérico que un acto tan simple y esencial perteneciente al olvido de los tiempos, aún en nuestros días, esté pendiente de aclarar.

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

En cuanto a los **enzimas antioxidantes** en el citosol del eritrocito:

La hipótesis alternativa (H_1) sostiene que existen diferencias en las enzimas antioxidantes del citosol del eritrocito, según el tipo de ligadura del cordón umbilical (ligadura precoz o tardía).

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

En cuanto al **desarrollo psicomotor** infantil estudiado mediante el test de Brunet-Lèzine revisado:

La hipótesis alternativa (H_1) afirma que existen diferencias en el desarrollo psicomotor infantil entre ambos tipos de ligadura del cordón umbilical (ligadura precoz y ligadura tardía).

La hipótesis nula (H_0) mantiene que las diferencias antes expuestas no existen.

9. OBJETIVOS .

Los objetivos de nuestro estudio son, en cuanto a los **enzimas antioxidantes en el citosol del eritrocito**:

1. Cuantificación de los niveles de enzimas antioxidantes en el citosol del eritrocito en recién nacidos a término.

2. Comparación de los niveles de enzimas antioxidantes entre ambos tipos de ligadura, ligadura precoz y ligadura tardía del cordón umbilical.

En cuanto al **desarrollo psicomotor infantil**:

1. Cuantificación del nivel de desarrollo psicomotor de recién nacidos a término sometidos a ligadura precoz y tardía.
2. Determinación de las posibles diferencias entre ambos grupos y si éstas se deben o no al tipo de ligadura.
3. Evolución en el tiempo del desarrollo psicomotor en niños sometidos a ligadura tardía y ligadura precoz del cordón umbilical.

10. PERTINENCIA Y APORTACIÓN DEL ESTUDIO .

Son varios los motivos que nos llevan a considerar la pertinencia de nuestro estudio, la ligadura del cordón umbilical, constituye un suceso que reúne dos condiciones fundamentales, como son la simplicidad y la importancia. La simplicidad estriba en que sólo necesita de un sencillo gesto de clampaje que ocluya la circulación sanguínea en la vena y las arterias umbilicales. Su importancia radica en que 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, cuando desde el ancestro, el cordón no reía ligado? Entre los investigadores, no existe concordia en este asunto y se han empleado ríos de tinta para, defender, por parte de unos, la ligadura precoz mientras, que otros, suministran razones a favor de la ligadura tardía.

Los motivos por los que se abandonó la ligadura tardía del cordón umbilical en los países occidentales eran tan diversos como:

- a) Temor al desarrollo de taquipnea transitoria del recién nacido, hiperviscosidad, policitemia o hiperbilirrubinemia.
- b) Encontrarse el pediatra en la sala de partos esperando al recién nacido para comenzar la atención a éste.
- c) El deseo de obtener sangre del cordón umbilical para la determinación del pH y gases que refleja la condición durante el estado fetal, que no es posible si los vasos umbilicales se han colapsado.
- d) El deseo de iniciar precozmente el contacto con la madre -piel con piel- y la lactancia materna.
- e) Para realizar un manejo activo del alumbramiento y disminuir la hemorragia posparto.

Dado que contamos con muchos estudios en los que se demuestra que los clásicos motivos por los que no se realizaba ligadura tardía no demuestran actualmente, como demostró Emhamed ¹³⁴, en el 2004, que no hay diferencias significativas en cuanto a la incidencia de policitemia sintomática entre los recién nacidos sometidos a ligadura precoz y tardía. En este sentido, Mercer et al ³¹¹, en 2001, en una revisión

sistemática de la literatura de los estudios clínicos aleatorizados y controlados, concluyó que no hay evidencia científica suficiente para afirmar que la ligadura tardía del cordón cause policitemia sintomática.

Cada vez en la literatura aparecen más casos en los que se observan los efectos beneficiosos de la ligadura tardía, como el de Grajeda et al¹⁷⁵ y Geethanath et al¹⁵⁹ en 1997 que encontraron niveles de hematocrito más altos a los dos y tres meses de edad y una tendencia a tener unos mayores niveles de ferritina sérica en recién nacidos a término sometidos a ligadura tardía. Rabe et al³⁹⁷ en el 2000 demostró que retrasar el pinzamiento del cordón umbilical 45 segundos en recién nacidos de 33 semanas era además de posible, seguro y beneficioso, ya que éstos recién nacidos precisaban menos transfusiones, y presentaban mayores niveles de hemoglobina y hematocrito.

Contamos en la literatura con estudios que afirman que las vitaminas “E” y “C” se ceden en su mayoría al final de la gestación, como ya se ha comentado anteriormente⁵⁵⁹, además se ha afirmado que al retrasar la ligadura del cordón umbilical se cede mucho más material antioxidante de lo cedido anteriormente, luego no sólo aumenta el traspaso de material antioxidante al final del embarazo, sino que también ocurre al final del parto, de modo que los niños sometidos a ligadura tardía, tienen igual estrés oxidativo que los sometidos a ligadura precoz, pero lo eliminan más rápido que éstos³⁵².

Luego si en la literatura se afirma que al retrasar la ligadura del cordón umbilical podríamos influir en la velocidad del niño para eliminar el estrés oxidativo, ¿encontraríamos resultados similares en nuestra muestra, teniendo en cuenta que sólo tomaremos gestantes sanas con partos eutócicos? Y de ser así, ¿por qué no podría influir este dato en el desarrollo psicomotor posterior?

Pensamos y podemos decir, por tanto, que actualmente no existe ninguna justificación para el pinzamiento precoz y que cada vez hay más evidencia de los efectos beneficiosos del pinzamiento tardío y de la ausencia de efectos adversos.

Partiendo de la inocuidad de la técnica, y de sus efectos beneficiosos ya demostrados en estudios previos, nosotros pretendemos averiguar si a los efectos beneficiosos de la ligadura tardía se les puede añadir una mejor defensa antioxidante, y un mayor desarrollo psicomotor en los recién nacidos sometidos a este tipo de ligadura.

En el campo práctico de nuestra labor asistencial diaria supondría terminar de instaurar la práctica de la ligadura tardía del cordón umbilical siempre que no hubiese contraindicación para ello (isoimmunización Rh, serologías positivas, gestación gemelar).

Nuestro proyecto es bastante novedoso ya que, sí bien se han estudiado:

- Parámetros analíticos y clínicos en los recién nacidos sometidos a ligadura tardía,
- Estudios de desarrollo neurológico y social en niños que nacieron afectados de CIR o PEG.
- Estudios sobre desarrollo psicomotor en hijos de madres expuestas a determinadas sustancias, tanto legales como ilegales,

No hemos encontrado en la literatura ningún estudio que evalúe el desarrollo psicomotor de los niños sometidos a ligadura tardía frente a los que tuvieron una ligadura precoz del cordón umbilical.

Intentamos con esta aportación colaborar en el esclarecimiento de esta duda que hay que decidir en la clínica diaria y que -desde luego- consideramos que tendrá una gran repercusión en algo básico, no solo en el momento del nacimiento el niño, sino también en el desarrollo posterior de éste.

Nuestro estudio intentaría encontrar si hay alguna diferencia en las enzimas antioxidantes del citosol del eritrocito, y en el desarrollo psicomotor entre los niños de nuestro estudio, de ser así, buscaríamos en qué grupo es mayor la defensa antioxidante y en cual es mejor el desarrollo psicomotor y si estas diferencias se deben al tipo de ligadura a que fueron sometidos en el momento de su nacimiento. Por otra parte, estudiaremos si el desarrollo psicomotor a su vez está relacionado con los enzimas antioxidantes eritrocitarias en ambos tipos de ligadura.

Para nuestro estudio utilizamos sangre del cordón umbilical donde investigamos los enzimas antioxidantes eritrocitarios, y para el desarrollo psicomotor utilizamos el test de Brunet- Lézine revisado. Elegimos este por ser riguroso y constar de pruebas muy claras, con resultado dicotómico (lo cumple o no lo cumple) de técnica fácil de aplicar que da lugar a un comportamiento inmediato e inequívoco por parte del niño y además, a los padres se les hacen unas preguntas sobre comportamientos habituales del niño imposibles de provocar en la consulta y que son de gran importancia para juzgar el desarrollo. También se entrevistó a los padres, filiando al niño en una realidad social y familiar, del modo de trabajo de los padres, número de hijos, miembros del núcleo familiar, cuidador habitual del niño, separación de los padres y circunstancias de la separación antecedentes de salud tanto del niño como de los demás ocupantes del núcleo familiar...etc.

CAPÍTULO IV

- MATERIAL y MÉTODOS

11. MATERIAL Y MÉTODOS.

Esta tesis Doctoral es interdepartamental, ha sido realizada dentro del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Granada (Director: Prof. Luis Navarrete López-Cózar) y 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:

- Jesús Florido Navío (Depto. Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Granada).
- Antonio Muñoz Hoyos (Depto. Pediatría de la Universidad de Granada).
- Julio José Ochoa Herrera (Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos).

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.

11.1. MATERIAL, SUJETOS DE ESTUDIO.

11.1.1. SUJETOS DE ESTUDIO:

El material fue seleccionado en el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Clínico San Cecilio de Granada (España), entre octubre de 2005 y junio de 2006.

Se tomaron para este estudio, 151 embarazadas en pródromos de trabajo de parto que reunían las siguientes condiciones prefijadas, o **factores de inclusión**:

1. Embarazos sin patología.
2. Feto único y en presentación cefálica.
3. Partos que posteriormente terminaron por vía vaginal y de forma espontánea.
4. Gestaciones y fetos a término: con amenorrea de 37 a 41 semanas cumplidas.
5. Neonatos de peso adecuado para su edad gestacional y entre 2.800 y 3.800 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 ABO y Rh.
2. Serologías maternas positivas.
3. Todos los recién nacidos no presentaron signos de hipotermia.
4. Todos los recién nacidos que aunque cumplieren todos los criterios de inclusión, fuesen hijos de padres de habla no hispana, dado los sesgos que podríamos obtener a la hora de realizar el “baby-test” al recién nacido, evitando los problemas de comunicación.
4. Todos los que no cumplan los criterios de inclusión antes reseñados.

Una vez comprobado que la paciente cumplía los criterios de inclusión, se le explicaba el proceso, el método a seguir y la finalidad del estudio. Se le solicitaba un consentimiento informado y, si aceptaba participar, se asignaba -con una tabla de números aleatorios- la pertenencia a uno de los dos grupos (de ligadura precoz o al de ligadura tardía).

Definimos los dos grupos de estudio del siguiente modo:

a) Ligadura precoz: a la realizada antes de los 20 segundos de producirse la expulsión fetal, habiéndolo mantenido en una posición unos 20 cm inferior al periné de la madre.

b) Ligadura tardía: a la realizada a los 2 minutos tras el nacimiento del feto, habiéndolo mantenido en una posición unos 20 cm inferior al periné de la madre.

Será importante comprobar, a pesar de que la asignación a uno u otro grupo es aleatoria, que entre ambos grupos no existan diferencias en cuanto a factores que pudieran influir en el resultado, como ser: la edad materna, edad gestacional, dilatación al comenzar el control del parto, velocidad de dilatación, paridad, forma de inicio del parto, analgesia epidural, líquido amniótico teñido de meconio, alteraciones en el registro cardiotocográfico, presencia de circulares de cordón, sexo del recién nacido, madre fumadora.

11.1. 2. MÉTODO: RECOGIDA DE MUESTRAS:

Se tomó nota, en la sala de partos, de todos los valores de la historia clínica considerados como relevantes para nuestro estudio. Por ello, se recogieran en una ficha, además del tipo de ligadura al que se ha sometido, los datos personales de la madre, datos de filiación, así como dirección y teléfono para poder ponernos en contacto con ella una vez dada de alta. También acopiamos en dicha ficha su historia clínica, datos sobre el desarrollo de la gestación actual, la toma o no de medicamentos, y los procesos que han cursado con ingresos hospitalarios y los tratamientos que se hayan instaurado. Se recogerán datos sobre el desarrollo del parto, la dilatación con que ingresa en paritorio, el tiempo que tarda en alcanzar la dilatación completa, el tiempo de expulsivo, la existencia de meconio, la presencia de alteraciones en el RCTG, la presencia de circulares de cordón, si se administra analgesia epidural, el tiempo que tarda el alumbramiento y si existen anomalías placentarias (Ficha I).

Además anotamos los datos del recién nacido; su historia clínica, el peso, el sexo y la evolución en las horas posteriores al nacimiento. En el caso de que el recién nacido haya sido ingresado, dispondremos de más datos complementarios sobre éste (Ficha I).

Posteriormente, comenzaremos a realizar a los recién nacidos el “baby-test” Brunet-Lézine revisado. Para hacer el proceso más sencillo, siendo conscientes de las limitaciones que podemos tener para aplicar correctamente el test, citaremos a todos los niños cuando cumplan la misma edad, para así simplificar el proceso de aprendizaje y disminuir los sesgos la hora de interpretar los test (Ficha II).

FICHA I: HOJA DE RECOGIDA DE DATOS.

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. Datos fetales.-

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

Para evitar diferencias ínter observador y simplificar el proceso de aprendizaje, se citará a todos los niños en la misma consulta, siempre por la tarde, a las mismas horas, y lo realizará siempre la misma persona, que no conocerá a qué tipo de ligadura se sometió cada caso. En el momento de la realización del test se tomará nota de datos

puntuales en la hoja de evaluación del test de Brunet-Lèzine, así como si ese día, el niño estaba enfermo, apático o cualquier otra característica que pudiera afectar al resultado (Ficha II).

Y por último, se llevarán estos datos a la hoja de nivel del test de Brunet-Lèzine con el objeto de transformar nuestros datos cualitativos en cuantitativos (Ficha III).

FICHA II: HOJA DE EVALUACIÓN DEL TEST DE BRUNET-LÈZINE.

- Fecha de examen.
- Fecha de nacimiento.
- Edad real.
- Nombre y apellidos.
- Sexo.
- Examinador.
- Dirección.
- Edad y profesión de los padres.
- Breve historial de salud de los padres.
- Puesto que ocupa en la familia.
- Edad y salud de los hermanos.
- Desarrollo del embarazo.
- Parto.
- Peso al nacer y en el momento del examen.
- Talla al nacer y en el momento del examen.
- Lactancia materna.
- Antecedentes médicos del niño.
- Tipo de custodia.
- Separaciones de los padres (hospitalizaciones y otros).
- Edad de adquisición de la marcha, de las primeras palabras, y de los esfínteres diurnos y nocturnos.
- Alimentación y reacción a los cambios de régimen.
- Calidad del sueño.
- Estudio de la capacidad motora y postural (pruebas del campo o dominio "P"), se investigan los movimientos en posición dorsal, ventral, sentada y de pie.
- Estudio de la capacidad de coordinación vasomotora, la prensión y el comportamiento del niño con los objetos (pruebas del campo o dominio "C").
- Estudio del lenguaje en sus funciones de comprensión y de expresión (pruebas del campo o dominio "L").
- Estudio de las relaciones sociales (pruebas del campo o dominio "S") englobando la toma de conciencia de sí mismo, las relaciones con los otros, las reacciones mímicas y la adaptación a las relaciones sociales.

11.1.3. MATERIAL: 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.

FICHA III: HOJA DE NIVEL DEL TEST DE BRUNET-LÈZINE.

En esta ficha, se transforman los resultados de la aplicación del test de *Brunet-Lèzine*, para ello se transcriben los “item” que el niño cumple (señalado con +) o no cumple (señalado con -) a un nuevo formulario que clasifica por meses todos los datos del desarrollo psicomotor.

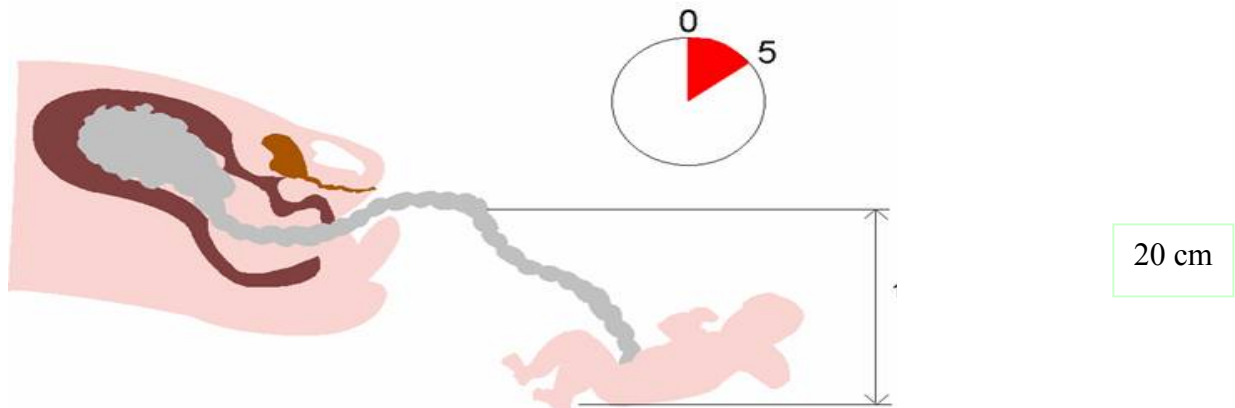
Posteriormente se refleja en una escala que proporciona la misma ficha con la que se le asigna una puntuación, y que a su vez corresponde a una edad en desarrollo en meses. Además se recoge:

- Número de puntos en cada área de desarrollo (“P”, “C”, “L” y “S”) y global.
- Edad real en días.
- Edad de desarrollo en días en cada área (“P”, “C”, “L” y “S”) y global.
- Coeficiente de desarrollo (QD) en cada área (“P”, “C”, “L” y “S”) y global:

$$\text{QD} = (\text{edad de desarrollo en días} / \text{edad real en días}) \times 100$$

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. Este grupo se compone de 72 casos donde se ligará el cordón a los 2 minutos del nacimiento, habiéndolos mantenido en una posición unos 20 cm inferior a la madre.

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, aproximadamente, los 2:15 minutos; hubiera sido muy difícil obtener muestras sanguíneas de estos casos.



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, así se constituyó la muestra.

Una vez seleccionada a su entrada en la sala de dilatación, solicitamos a la parturienta un consentimiento informado, una vez que le habíamos 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.

Se cumplimentó una hoja de recolección de datos que posteriormente emplearíamos (Ficha I).

11.1.4. CARACTERES A ESTUDIAR Y FIJAR EN AMBOS GRUPOS DE ESTUDIO.

Como hemos explicado anteriormente, 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, por ello debería ocurrir que todas las características inherentes a ellos sean similares. Pero esto hay que demostrarlo; para ello, mediante el procedimiento estadístico adecuado estudiamos 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.

11.1.4.1. Edad materna.-

Entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas en la edad materna (Tabla 11).

		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	

⁽¹⁾ Desviación típica

⁽²⁾ Error estándar de la media

Tabla 11.

11.1.4.2. 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 (Tabla 11).

11.1.4.3. 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 (Tabla 12).

VELOCIDAD DE DILATACIÓN

		MEDIA	DS ⁽¹⁾	EEM ⁽²⁾	Test "U" MANN WHITNEY "Z" "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 dilatación³	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	

⁽¹⁾ Desvío estándar

⁽²⁾ Error estándar de la media

Tabla 12.

11.1.4.4. Duración del periodo de expulsivo.-

Medidas en minutos, entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas en la duración del periodo de dilatación (Tabla 12).

11.1.4.5. Duración de la dilatación.-

Medidas en minutos, entre ambas muestras de estudio no se ha podido demostrar diferencias significativas en la duración total del parto (Tabla 12).

11.1.4.6. Índice de velocidad de la dilatación.-

Medidas en cm/ min, 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 (Tabla 12).

11.1.4.7. 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. $X^2 = 3,189$ ($p < 0,074$) (Tabla 13).

PARIDAD

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

X^2 Chi-Cuadrado de Pearson

Tabla 13.

11.1.4.8. Fumadora.-

Todas las mujeres fumadoras lo hacían 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.

Entre las componentes de ambas muestras de estudio, no se ha podido demostrar una asociación que fuera estadísticamente significativa entre el grupo constituido por las gestantes que eran fumadoras y aquellas gestantes que no eran fumadoras o no. $X^2 = 2,688$ ($p < 0,10$) (Tabla 14).

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 %)		

Tabla 14.

11.1.4.9. 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. $X^2 = 0,003$ ($p < 0, 956$) (Tabla 15).

FORMA DE INICIO EL PARTO.

	Espontáneo	Inducido	X ²	“p”
Ligadura precoz	26 (32,9 %)	53 (67,1 %)	0,003	0,95
Ligadura tardía	24 (33,3 %)	48 (66,7 %)		

Tabla 15.

11.1.4.10. Empleo de anestesia 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. $X^2 = 1,196$ ($p < 0,274$) (Tabla 16).

EMPLEO DE ANALGESIA EPIDURAL

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

Tabla 16.

11.1.4.11. Líquido amniótico en aguas anteriores.-

En ningún caso se encontró líquido amniótico teñido en las aguas anteriores, sin embargo, tras producirse el periodo expulsivo, hubo algún caso de tinción en aguas posteriores. Los resultados obtenidos son:

Ligadura precoz: en aguas posteriores, un total de 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. $X^2 = 2,889$ ($p < 0,089$) (Tabla 17).

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 %)		

Tabla 17.

11.1.4.12. Registro cardiotocográfico de la Frecuencia Cardíaca Fetal. F (RCTG).-

Durante el transcurso del parto, 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 ($p < 0, 133$) (Tabla 18).

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 %)	

Tabla 18.

11.1.4.13. 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 ($p < 0, 271$) (Tabla 19).

CIRCULARES DE CORDÓN UMBILICAL

	Si	No	Test FISHER X ² "P"
Ligadura precoz	66 (83,5 %)	13 (16,5 %)	0,01 0,27
Ligadura tardía	55 (76,4 %)	17 (23,6 %)	

Tabla 19.

11.1.4.14. 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. $X^2 = 2,362$ ($p < 0,124$) (Tabla 20).

SEXO DEL RECIÉN NACIDO

	Masculino	Femenino	X ² "P"
Ligadura precoz	34 (43,0 %)	45 (57,0 %)	2,362 0,12
Ligadura tardía	40 (55,6 %)	32 (44,4 %)	

Tabla 20.

Además, dado que otra parte de nuestra metodología de estudio consiste en una **evaluación del desarrollo psicomotriz** de estos recién nacidos, procedería realizar una **comparativa socio-demográfica** de ambos grupos de estudio (ligadura precoz y ligadura tardía), para demostrar si estos parámetros socio-demográficos pesan de igual forma en ambas muestras.

Es muy importante que tengamos en cuenta que, en esta fase del estudio, la muestra se redujo puesto que, tan sólo, algunos de los padres presentaron la misma adherencia a someterse al mismo.

11.1.4. 15. **Edad de los padres.**-

Los resultados que se han obtenido son los siguientes:

Al considerar la **edad paterna** en el caso de **ligadura precoz** del cordón umbilical, se compone de un total de 35 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 35,85 mediana = 35 moda = 35
- de variación:
DE = 4,819 EEM = 0,815 P₁₀ = 29 P₉₀ = 41,4

El valor mínimo de la muestra fue de 27 años, el máximo de 46, lo que arroja un rango de 19 años.

Y al considerar el caso de la **edad paterna** en la **ligadura tardía** del cordón umbilical, se compone de un total de 35 casos, que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 34 mediana = 34 moda = 31 (hay varias modas, se expone la de menor tamaño.)
- de variación:
DE = 4,875 EEM = 0,824 P₁₀ = 27,60 P₉₀ = 40,80

El valor mínimo de la muestra fue de 23 años y el máximo de 42, lo que arroja un rango de 19 años.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar diferencias significativas en la edad paterna cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 22).

ESTADÍSTICOS DE EDAD DE LOS PADRES

Edad del padre:

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
Casos válidos	35	Casos válidos	35
Media	35,85	Media	34,00
Error est. Media	,815	Error est. Media	,824
Mediana	35,00	Mediana	34,00
Moda	35	Moda	31(a)
Desv. Estándar	4,819	Desv. Estándar	4,875
Sesgo	,166	Sesgo	-,086
Error est. sesgo	,398	Error est. sesgo	,398
Curtosis	-,440	Curtosis	-,741
Error est.curtosis	,778	Error est.curtosis	,778
Rango	19	Rango	19
Mínimo	27	Mínimo	23
Máximo	46	Máximo	42
Percentil 10	29,00	Percentil 10	27,60
Percentil 90	41,4	Percentil 90	40,80

Edad del padre y tipo de ligadura

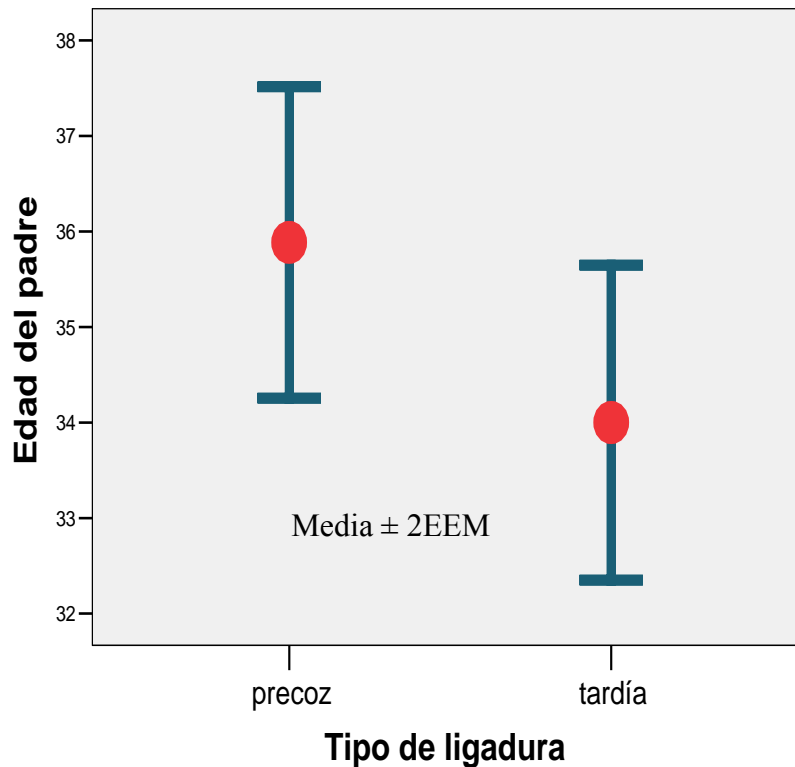


Figura 22

Test de “U” Mann y Whitney: 495,5

Z: -1,379 (p < 0,168)

Al considerar la **edad materna** en el caso de **ligadura precoz** del cordón umbilical, la muestra se compone de un total de 35 casos, que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 32,77 mediana = 33,00 moda = 35
- de desviación:
DE = 4,551 EEM = 0,769 P₁₀ = 26,8 P₉₀ = 38,0

El valor mínimo de la muestra fue de 23 años, el máximo de 43, lo que arroja un rango de 20 años.

En cuanto a la **edad materna** en el caso de la **ligadura tardía** del cordón umbilical, la muestra se compone de un total de 37 casos, que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 31,27 mediana = 31 moda = 31
- de desviación:
DE = 5,146 EEM = 0,846 P₁₀ = 24,2 P₉₀ = 37,2

El valor mínimo de la muestra fue de 20 años, el máximo de 41, lo que arroja un rango de 21 años.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar diferencias significativas en la edad materna cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 23).

Edad de la madre:

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
Casos válidos	35	Casos válidos	37
Media	32,77	Media	31,27
Error est. Media	,769	Error est. Media	,846
Mediana	33,00	Mediana	31,00
Moda	35	Moda	31
Desv. Estándar	4,551	Desv. Estándar	5,146
Sesgo	,147	Sesgo	-,374
Error est. sesgo	,398	Error est. sesgo	,388
Curtosis	,254	Curtosis	,200
Error est.curtosis	,778	Error est.curtosis	,759
Rango	20	Rango	21
Mínimo	23	Mínimo	20
Máximo	43	Máximo	41
Percentil 10	26,8	Percentil 10	24,2
Percentil 90	38,0	Percentil 90	37,2

Edad de la madre y tipo de ligadura

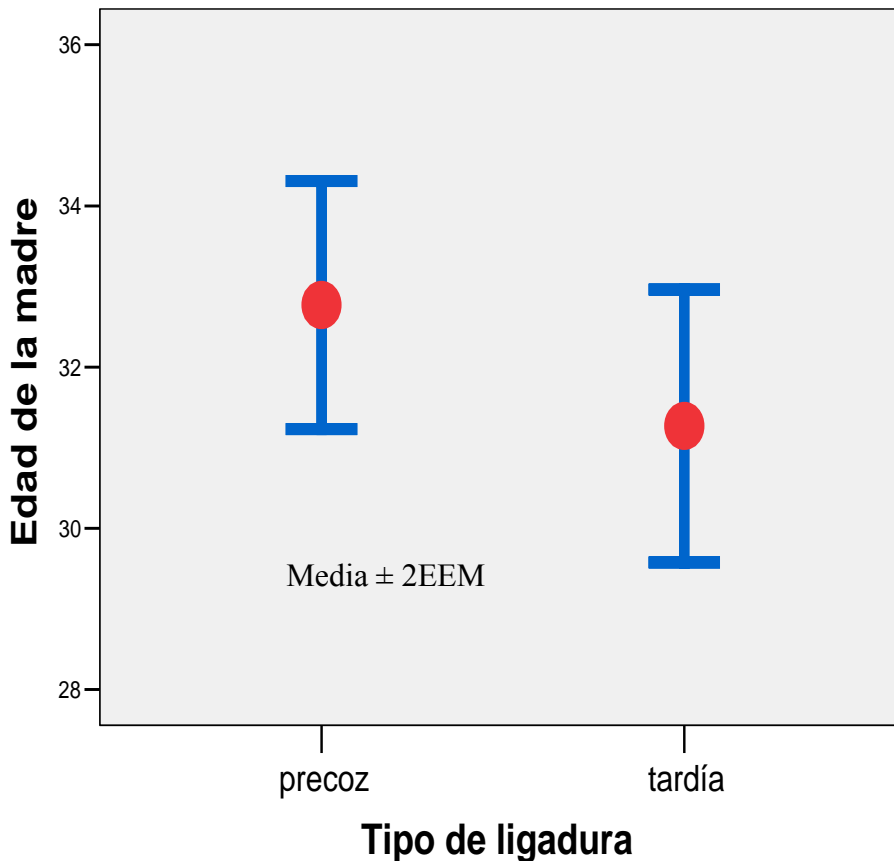


Figura23

Test de “U” Mann y Whitney: 550,5

Z: -1,096 (p < 0,273)

11.1.4.16. **Nivel de estudios de los padres** .-

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto al **nivel de estudios del padre** (tabla 21):

- **Ligadura precoz:** en un 57,1% los padres tenían un nivel de estudios primario, en el 17,1% secundarios y el 25,7% de los padre tenían un nivel de estudios superiores.

- **Ligadura tardía:** en un 65,7% los padres tenían un nivel de estudios primarios, el 11,4% tenían estudios secundarios y el 22,9 % superiores.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre el nivel de estudios de los progenitores masculinos de ambas muestras de estudio al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig. 24). **X² = 0,668 (p< 0,716)**

		nivel de estudios del padre			Total	
		primarios	secundarios	superiores		
tipo de ligadura	precoz	niños	20	6	9	35
		% según tipo de ligadura	57,1%	17,1%	25,7%	100,0%
	tardía	niños	23	4	8	35
		% según tipo de ligadura	65,7%	11,4%	22,9%	100,0%
Total		niños	43	10	17	70
		% según tipo de ligadura	61,4%	14,3%	24,3%	100,0%

Tabla 21

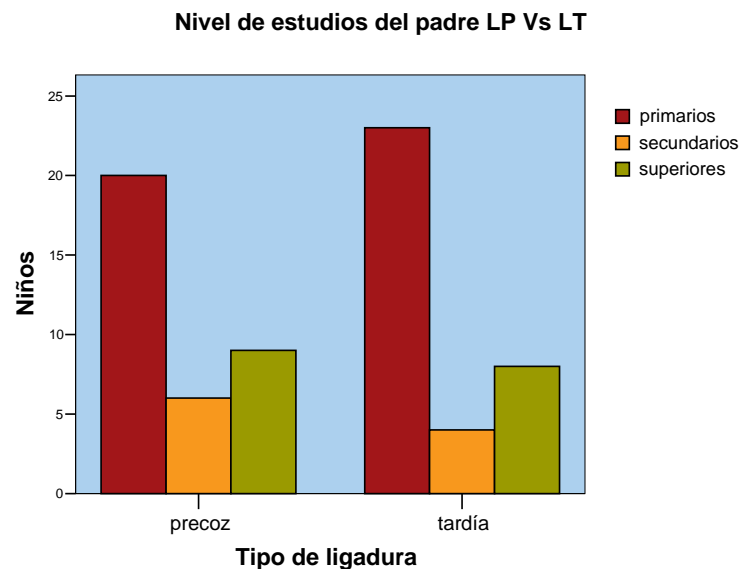


Figura 24

En cuanto al **nivel de estudios de la madre**, se obtuvieron los siguientes resultados (tabla 22):

- **Ligadura precoz:** un 51,4% de las madres tenían un nivel de estudios primario, un 28,6% secundarios y un 20% tenían estudios superiores.
- **Ligadura tardía:** un 48,6% de las madres tenían estudios primarios, un 32,4% estudios secundarios, y un 18,9% estudios superiores.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre el nivel de estudios de las madres de ambas muestras de estudio al correlacionarles con la χ^2 de Pearson (Fig. 25). $X^2 = 0,126$ ($p < 0,939$)

		nivel de estudios de la madre			Total	
		primarios	secundarios	superiores		
tipo de ligadura	precoz	niños	18	10	7	35
		% según tipo de ligadura	51,4%	28,6%	20,0%	100,0%
	tardía	niños	18	12	7	37
		% según tipo de ligadura	48,6%	32,4%	18,9%	100,0%
Total		niños	36	22	14	72
		% según tipo de ligadura	50,0%	30,6%	19,4%	100,0%

Tabla 22

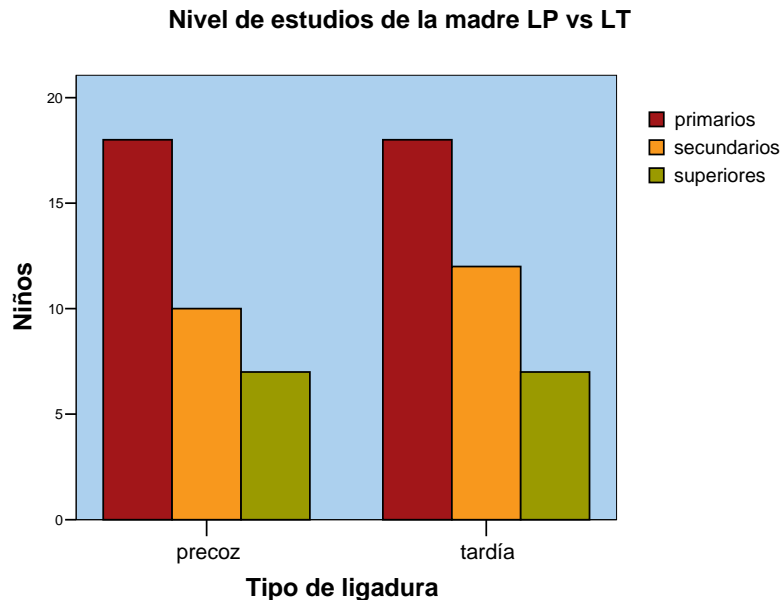


Figura 25

11.1.4.17. **Número de hermanos.-**

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto a la comparación del número de **hijos únicos** entre ambos grupos (tabla 23):

- **Ligadura precoz:** el 34,3% de los niños eran hijos únicos, mientras que el 65,7% tenían algún hermano.
- **Ligadura tardía:** eran hijos únicos el 40,5% mientras que el 59,5% tenían algún hermano.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre el número de hijos únicos de ambas muestras de estudio al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig. 26). **X² = 0,300 (p < 0,584).**

			nº de hijos de la familia		Total
			1	>1	
tipo de ligadura	precoz	Niños	12	23	35
		% según tipo de ligadura	34,3%	65,7%	100,0%
	tardía	Niños	15	22	37
		% según tipo de ligadura	40,5%	59,5%	100,0%
Total		Niños	27	45	72
		% según tipo de ligadura	37,5%	62,5%	100,0%

Tabla 23

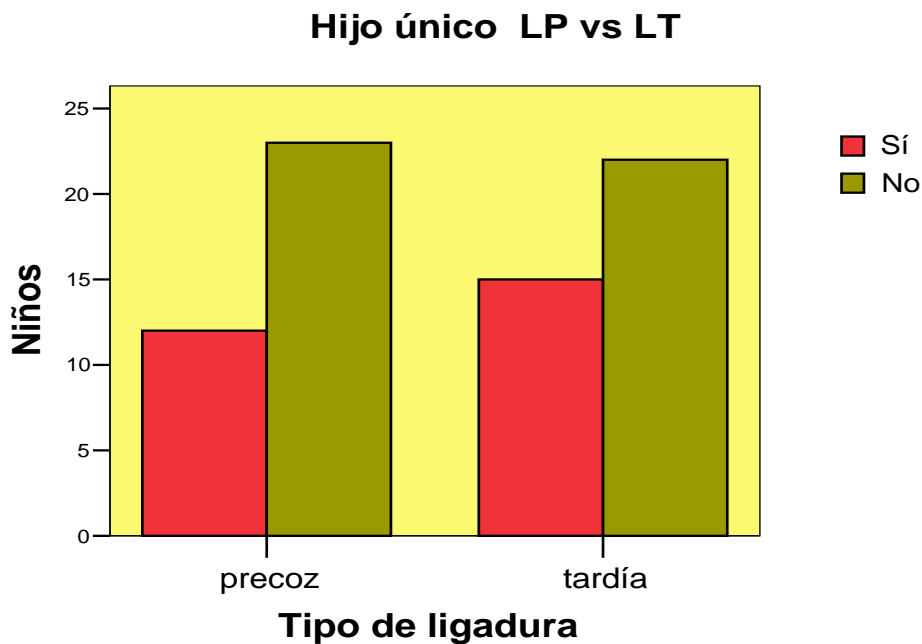


Figura 26

11.1.4.18. Estado de salud de los padres.-

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto al **estado de salud de los padres** entre ambos grupos, teniendo en cuenta que sólo se han tomado mujeres sanas, es de entender que nos referimos al progenitor masculino (Tabla 24).

- **Ligadura precoz:** estaban sanos el 94,3% de los padres de los niños sometidos a ligadura precoz, mientras que el 5,7% tenían algún tipo de enfermedad crónica.
- **Ligadura tardía:** el 94,6% de los padres eran sanos, mientras que el 5,4 % estaban enfermos.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre el estado de salud de los padres de ambas muestras de estudio al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig.27). $X^2 = 0,003$ ($p < 0,954$).

			salud de los padres		Total
			sanos	enfermos	
tipo de ligadura	precoz	Niños	33	2	35
		% según tipo de ligadura	94,3%	5,7%	100,0%
	tardía	Niños	35	2	37
		% según tipo de ligadura	94,6%	5,4%	100,0%
Total		Niños	68	4	72
		% según tipo de ligadura	94,4%	5,6%	100,0%

Tabla 24

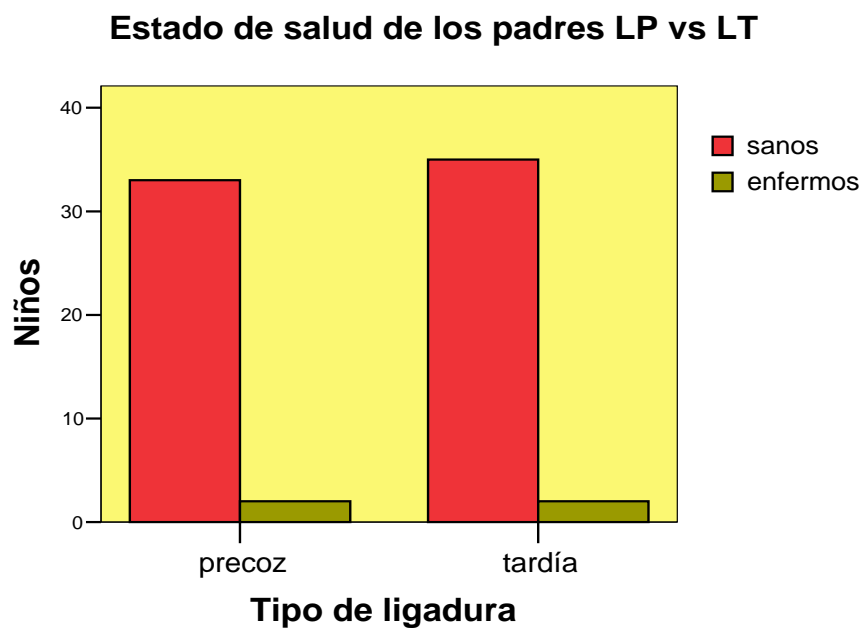


Figura 27

11.1.4. 19. Tiempo de lactancia.-

En cuanto al **tiempo de lactancia** entre ambos grupos de estudio, al considerar la **ligadura precoz**, la muestra se compone de un total de 35 casos, que se distribuyen con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 3,71 mediana = 4,00 moda = 4
- de variación:
DE = 2,281 EEM = 0,477 P₁₀ = 0 P₉₀ = 9

El valor mínimo de la muestra fue 0 meses de lactancia materna, el máximo de 10 meses, los que arroja un rango de 10 meses.

Al considerar el **tiempo de lactancia materna** en el grupo de **ligadura tardía** del cordón umbilical, la muestra se compone de 37 casos, que se distribuyeron con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 4,76 mediana = 3,00 moda = 0 (hay varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 4,681 EEM = 0,770 P₁₀ = 0 P₉₀ = 13

El valor mínimo de la muestra fue de 0 meses de lactancia materna, el máximo fue de 13 meses, lo que arroja un rango de 13 meses.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar diferencias significativas en el tiempo de lactancia materna cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón (Figura 28).

ESTADÍSTICOS DE TIEMPO DE LACTANCIA MATERNA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
Casos válidos	35	Casos válidos	37
Media	3,71	Media	4,76
Error est. Media	,477	Error est. Media	,770
Mediana	4,00	Mediana	3,00
Moda	4	Moda	0(a)
Desv. Estándar	2,821	Desv. Estándar	4,681
Sesgo	,531	Sesgo	,776
Error est. sesgo	,398	Error est. sesgo	,388
Curtosis	-,236	Curtosis	-,984
Error est.curtosis	,778	Error est.curtosis	,759
Rango	10	Rango	13
Mínimo	0	Mínimo	0
Máximo	10	Máximo	13
Percentil 10	0	Percentil 10	0
Percentil 90	9	Percentil 90	13

(a) existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño.

Tiempo de lactancia materna y tipo de ligadura.

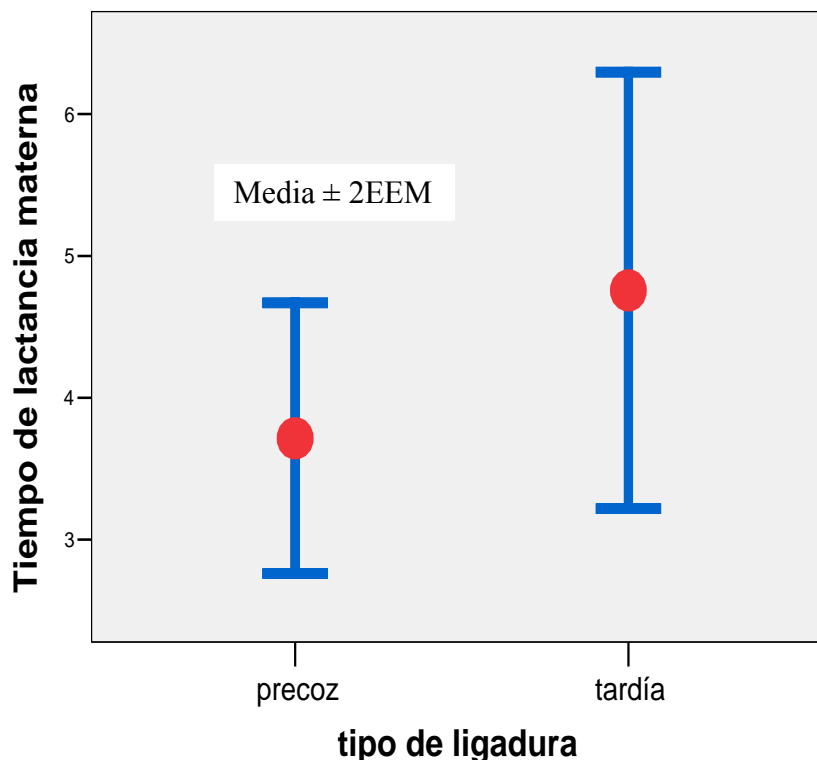


Figura 28

Test de "U" Mann y Whitney: 644,5

Z: -0,034 (p<0,973)

11.1.4.20. **Sexo del recién nacido.**

A pesar de que anteriormente se ha demostrado que la distribución por sexos de los recién nacidos era similar en ambos grupos, hemos de tener en cuenta para nuestro estudio, que la adherencia de los padres al mismo es variable. Por lo tanto tendremos que demostrar de nuevo homogeneidad entre sexos de los recién nacidos a los que conseguimos hacer un seguimiento de su desarrollo psicomotriz.

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto al sexo del recién nacido (tabla 25):

- **Ligadura precoz:** el 42,9% eran varones, mientras que el 57,1% hembras.
- **Ligadura tardía:** eran varones el 35,1%, y el 64,9% eran mujeres.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre el sexo del recién nacido de ambas muestras de estudio al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig.29). **X² = 0,451 (p < 0,502).**

			sexo		Total
			hombre	mujer	
tipo de ligadura	precoz	Niños	15	20	35
		% según tipo de ligadura	42,9%	57,1%	100,0%
	tardía	Niños	13	24	37
		% según tipo de ligadura	35,1%	64,9%	100,0%
Total		Niños	28	44	72
		% según tipo de ligadura	38,9%	61,1%	100,0%

Tabla 25

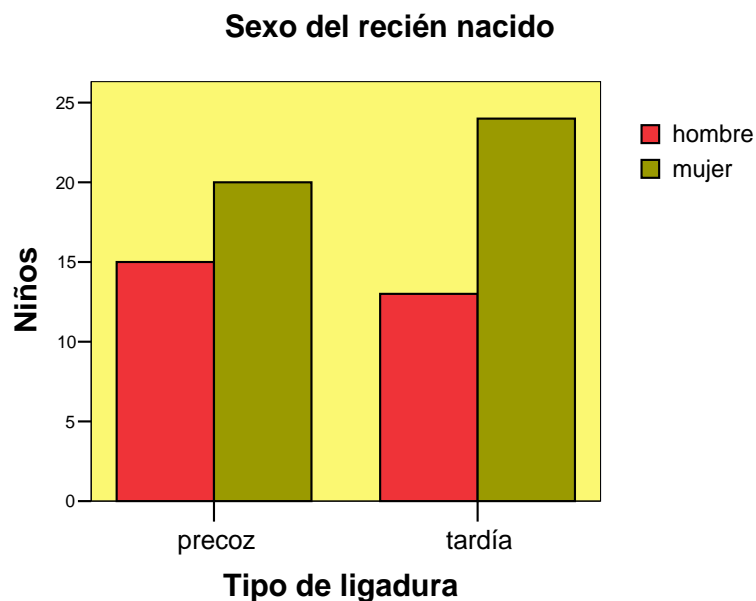


Figura 29

11.2. MÉTODO DE TRABAJO.-

11.2.1. Obtención de membranas de eritrocito.

Para ello utilizaremos el método descrito publicado por Hanahan y Ekholm {Hanahan & Ekholm 1974 #1300}, con ligeras modificaciones: se obtiene y separa el plasma de cada muestra mediante centrifugación, eliminándose posteriormente los leucocitos mediante un lavado con tampón isotónico Tris 310 mOsm pH 7,6, con posterior centrifugación a 100 G a una temperatura de 4°C y un tiempo de 15 minutos. El sobrenadante y la capa superficial de células obtenidas se separan mediante una pipeta Pasteur. Este procedimiento de lavado y eliminación se repitió dos veces más en cada muestra.

Para resuspender los eritrocitos lavados obtenidos se emplea un tampón Tris isotónico hasta un hematocrito aproximado del 50%. A la suspensión se le adiciona posteriormente tampón Tris hipotónico 20 mOsm de pH 7,6 en proporción 1/5. La operación de lavado con tampón hipotónico se repitió tres veces, quedando finalmente las membranas con un ligero tono rosáceo y el sobrenadante obtenido de la hemólisis de eritrocitos incoloro. Al finalizar el segundo lavado se realizó el trasvase de las membranas obtenidas a otro tubo para obviar el coágulo de pseudofibrina que proporcionaba a las membranas una coloración rojiza. Para visualizar mejor dichas membranas se procedió a la iluminación lateral del tubo continente.

Una vez eliminado el sobrenadante en el último lavado, se resuspendieron las membranas en 1 ml de tampón hipotónico, congelándolas a -80°C hasta su posterior análisis.

11.2.2. Contenido proteico de citosol .

La cuantificación de la proteína total, en plasma se efectúa siguiendo el método descrito por Lowry en 1951 {LOWRY, ROSEBROUGH, et al. 1951 #1310}. Éste se basa en la asociación entre las reacciones de Biuret y de Folin, la primera característica del enlace peptídico, y de los grupos fenólicos y de la tirosina la segunda.

La técnica es la siguiente: a 15 µl de muestra se le añaden 5 ml de reactivo de Biuret, se agita y, tras 15 minutos, se adicionan 0,5 ml de reactivo de Folin, se vuelve a agitar y tras 20 minutos, manteniendo los tubos en ambiente oscuro, se procede a su lectura en espectrofotómetro a una absorbancia de 640 nm. Para el cálculo de concentración existente se emplea una curva patrón con albúmina sérica.

11.2.3. Determinación de la actividad catalasa .

Se sigue el método descrito por Aebi {Aebi 1984 #10}, basado en la lectura mediante espectrofotometría de la actividad catalasa que promueve la descomposición de H₂O₂ en H₂O y O₂.

La técnica es la siguiente: en una cubeta de cuarzo, a 200 µl de una dilución del citosol en agua bidestilada (proporción 50:950) se le añaden 1800 µl de tampón fosfato 50 mM (KH₂PO₄ 50 mM y Na₂HPO₄.2H₂O 50 mM a pH 7.0) y 1000 µl de H₂O₂ 30

mM, se agita y se observa el descenso de absorbancia de H_2O_2 a 240 nm durante 60 segundos a 20°C, frente a un blanco realizado con 2800 μ l de tampón fosfato y 200 μ l de la dilución del citosol en agua bidestilada. Para el cálculo de unidades es recomendable el uso de una constante de reacción de primer orden (K), puesto que es éste el tipo de reacción de descomposición del H_2O_2 con concentraciones relativamente bajas de sustrato. Esto es debido a que, debido a la formación de complejos inactivos a las concentraciones de H_2O_2 de saturación, no es posible medir la actividad enzimática a través de la saturación.

11.2.4 . **Determinación de la actividad glutatión peroxidasa (GPX).**

Para la determinación de la actividad de la glutatión peroxidasa se procede según la técnica descrita por Flohe en 1984 {Flohe & Gunzler 1984 #1320}, que se basa en la formación instantánea de glutatión oxidado durante la reacción catalizada por la glutatión peroxidasa, y que es reducido de forma continua por un exceso de glutatión reductasa activa y NADPH presentes en la mezcla. La subsecuente oxidación de NADPH a $NADP^+$ se mide mediante espectrofotometría. De esta reacción, para la determinación de la verdadera actividad glutatión peroxidasa, interesa la parte enzimática dependiente de hidroperóxidos, por lo que se debe obviar la independiente de hidroperóxidos y la reacción no enzimática, en la que no interviene la glutatión peroxidasa.

Para proceder, pues, a la determinación se mezclan: 700 μ l de tampón fosfato potásico 0,1 M a pH 7.0 (al que se ha añadido previamente EDTA 1 mM y azida sódica 1mM); 100 μ l de glutatión reductasa (2,4 U/ml en tampón sin azida); 100 μ l de NADPH 10 mM en una solución de $NaHCO_3$ al 0,1%; 100 μ l de glutatión reducido 10 mM en tampón sin azida y 5 μ l de una dilución de citosol 90:10 (agua/citosol). Se incuba a 37°C durante 3 minutos, tras los que se vierten en una cubeta de cuarzo de 1 ml y se añaden 100 μ l de H_2O_2 12 mM, que dispara la reacción, procediéndose a la monitorización del descenso de NADPH a 240 nm durante 5 minutos, enfrentada a un blanco con un contenido igual salvo el H_2O_2 .

Para eliminar el descenso no enzimático se realiza otra lectura en la que la muestra se reemplaza por tampón, efectuándose dicha lectura frente a un blanco sin muestra ni H_2O_2 . El valor que se obtiene se resta del conseguido en la determinación descrita anteriormente, con lo que se averigua el descenso enzimático dependiente del peróxido. El resultado obtenido se expresa en unidades de actividad/mg de proteína.

11.2.5. **Realización de test de Brunet-Lézine Revisado, escala de desarrollo psicomotor de la primera infancia.**

El seguimiento del niño consistirá de una serie de visitas en las que se le realizará en test de “Brunet-Lézine revisado, escala de desarrollo psicomotor de la primera infancia”. Utilizamos este “baby test” por ser riguroso, con pruebas muy claras, de técnica fácil de aplicar que exige el material más simple posible dando lugar a un comportamiento inmediato e inequívoco; y que consta además de una serie de preguntas dirigidas a la madre sobre algunos comportamientos imposibles de provocar en la consulta y que son de gran importancia para juzgar el desarrollo.

Los padres no tendrán conocimiento del tipo de ligadura a que fue sometido su hijo, dado que aunque ambos están presentes en el momento del nacimiento, no tienen conocimiento de la técnica utilizada ni de los tiempos reglamentarios de un tipo u otro de ligadura.

En el momento de aplicar el test de “Brunet-Lézine revisado” el investigador no conocerá el tipo de ligadura a que se ha sometido el sujeto, además, para evitar sesgos en la interpretación de las respuestas de los padres y en los comportamientos de los niños, en todos los casos el test será aplicado por el mismo investigador, que previamente se habrá sometido a un entrenamiento básico, se trata por lo tanto, de un estudio doble ciego. También con el objeto de eliminar sesgos, se citó a todos los niños en el mismo rango horario, en la misma consulta.

Este “baby test” adopta una situación de observación del niño estandarizada, tiene una aplicación sencilla y rápida, un material que suscita el interés del niño y reduce a su vez la influencia del investigador gracias a una presentación bien organizada de las pruebas y a unos rigurosos principios de puntuación, además, con el reparto de las pruebas en una serie de campos o dominios se simplifica mucho su aplicación y facilita la adherencia del niño al estudio. Estos campos o dominios son:

- P: motor o postural, que es el estudio de los movimientos del niños en posición dorsal, ventral, sentada y de pie.
- C: coordinación vasomotora que es el estudio de la prensión y del comportamiento del niños con los objetos.
- L: estudio del lenguaje en sus funciones de comprensión y de expresión.
- S: relaciones sociales, englobando la toma de conciencia de sí mismo, las relaciones con los otros, las reacciones mímicas y la adaptación a las situaciones sociales.

En cada nivel de edad hay 10 “item” (repartidos entre las 4 áreas), lo que nos permite calcular las edades de desarrollo y los cocientes de desarrollo.

El test aporta dos fichas (ver ficha II y III) la Hoja de Evaluación (ficha II), donde los item están organizados de forma lógica según el material que debemos emplear con el niño, independientemente de la edad de desarrollo a la que corresponda, y ocurre así en los diferentes dominios. De este modo, al aplicar el test podemos simplificar mucho la técnica, ya que podemos observar directamente a qué edad de desarrollo corresponde el comportamiento del niño con el material objeto de estudio en cada ocasión sin tener que retirárselo en varias ocasiones, lo que dificultaría enormemente la tarea de mantener su atención. Por ejemplo, si deseamos evaluar su desarrollo motor, será más fácil conseguir la atención del niño al realizar todas las pruebas motoras seguidas.

Posteriormente, procederemos a transformar estos datos a la Hoja de Nivel (ficha III). En este formulario están organizados por edades los diferentes item pertenecientes a cada dominio. Iremos señalando en cada casilla si los cumple o no para posteriormente trasladarlos a una escala (que también nos aporta este mismo formulario) donde se señalará la edad de desarrollo y la puntuación que alcanza el niño. En nuestro caso no valoraremos ni la edad de desarrollo ni la puntuación, ya que si tenemos en cuenta que solo vamos a trabajar con niños sanos, dependerán de la edad de

éste, por lo tanto, trataremos el coeficiente de desarrollo (QD) en cada uno de los dominios y el coeficiente de desarrollo global.

Para el cálculo del QD en cada uno de los dominios, tomaremos la edad de desarrollo del niño en días, la dividiremos entre la edad real del niño en días y la multiplicaremos por 100. En el caso del QD global haremos la media de la edad de desarrollo de cada uno de los dominios en días, dividido entre la edad real en días y multiplicado por 100.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para comparar una serie de parámetros o estimadores, a los individuos se les separa en dos grupos o muestras de estudio, que son:

a) un grupo de individuos conformado por la ligadura precoz del cordón umbilical, como la realizada antes de los 20 segundos de producirse la expulsión fetal, habiéndolo mantenido en una posición unos 20 cm inferior al periné de la madre.

b) otro grupo de individuos designado por la ligadura tardía del cordón umbilical, como la realizada a los 2 minutos tras el nacimiento del feto, habiéndolo mantenido en una posición unos 20 cm inferior al periné de la madre.

El planteamiento de esta investigación va desde el efecto a la causa, es decir:

- El efecto viene proporcionado por la ligadura precoz o tardía del cordón umbilical
- La causa es la secuela que sobre los enzimas antioxidantes y sobre el desarrollo psicomotor, se observa en cada uno de los dos grupos de estudio.

Se refiere pues, a un estudio de casos y controles.

Atendiendo a todas las características que concurren en esta investigación, podemos resumir que se trata de: un estudio prospectivo, descriptivo, experimental y de casos controles.

11.3. MÉTODO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO y MÉTODO INFORMÁTICO .

Metodología estadística.-

Se calculará el intervalo de confianza para el 95 % y una precisión $\alpha = 5 \%$

Como las distribuciones de los estimadores estudiados no se distribuyen siguiendo la curva de normalidad de Gaus, la representación gráfica de las medidas de tendencia central y las medidas de variación se hace con la media aritmética ± 2 errores estandar de la media, lo que incluye el 95 % de las medias de la población.

Por no ajustarse a la curva normal, en los casos en que se ha trabajado con variables continuas, cuando ha sido conveniente conocer si los estimadores analizados en cada una de las muestras de estudio (ligadura precoz y ligadura tardía) han sido extraídas de la misma población, hemos utilizado estadística no paramétrica para

pruebas de datos independientes. Se elegido como test de homogeneidad de muestras el test “U de Mann y Whitney”. En el caso de poderse demostrar diferencias significativas hemos aceptado la Hipótesis alternativa (H_1) y en el caso de no poderlo demostrar hemos tenido que aceptar la hipótesis de nulidad (H_0).

Para aceptar si existe asociación entre diferentes variables discretas, para obtener el contraste de hipótesis se ha empleado el test de la χ^2 de Pearson para tablas de contingencia.

Metodología informática.-

Para los cálculos estadísticos y la construcción de gráficos hemos empleado el paquete estadístico del programa informático SPSS 13.0.

CAPÍTULO V

RESULTADOS

12. RESULTADOS.

La cantidad de enzima puede ser expresada, como la de cualquier otro compuesto químico, en moles; o puede ser cuantificada en términos de actividad enzimática.

La actividad enzimática es una medida de la cantidad de enzima presente o de la actividad de la misma, la cual depende de las condiciones de trabajo, que deben ser especificadas en cada caso. La actividad expresa la cantidad de sustrato convertido por unidad de tiempo, teniendo en cuenta el volumen de reacción.

En el Sistema Internacional de Unidades la unidad para la actividad catalítica es el katal (kat), por ser una unidad demasiado grande, suele usarse la unidad de actividad enzimática (U).

$$1 \text{ kat} = 1 \text{ mol sustrato convertido} \cdot \text{seg}^{-1} = 6 \times 10^7 \text{ U}$$

$$1 \text{ U} = 1 \text{ } \mu\text{mol sustrato convertido} \cdot \text{min}^{-1} = 16,67 \text{ nkat}$$

Otra unidad comúnmente usada es la actividad específica. Ésta se refiere a la actividad de una enzima por miligramo (mg) de proteína, y se suele expresar en: $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$. La actividad específica da una idea de la pureza de la enzima.

12.1 Resultados enzimas antioxidantes.

Se determinó la actividad de enzimas antioxidantes catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (Gprx) y superóxido dismutasa (SOD).

12.1.1. ACTIVIDAD DE LA CATALASA.

La actividad de la enzima catalasa se ha determinado en dos unidades de medida, en K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$) y en U/mg.

12.1.1.A. Actividad Catalasa en vena umbilical.

Al considerar la actividad de la enzima catalasa determinada **en K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$) en vena** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 0,28 mediana = 0,24 moda = 0,24
- de variación:
DE = 0,08 EEM = 0,01 $P_{10} = 0,19$ $P_{90} = 0,41$

El valor mínimo de la muestra fue de 0,16 K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$) y el máximo de 0,45 K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$), lo que arroja un rango de 0,28 K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$).

Al considerar la actividad de la enzima catalasa **en vena en K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$)** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 0,33 mediana = 0,33 moda = 0,35
- de variación:
DE = 0,07 EEM = 0,01 $P_{10} = 0,23$ $P_{90} = 0,48$

El valor mínimo de la muestra fue de 0,21 K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$) y el máximo de 0,50 K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$), lo que arroja un rango de 0,29 K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$).

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima catalasa en K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$) en vena umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 30).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD CATALASA K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$) EN VENA UMBILICAL Y TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	30	N válidos	30
Media	,28	Media	,33
Error típ. de la media	,01	Error típ. de la media	,01
Mediana	,24	Mediana	,33
Moda	,24	Moda	,35(a)
Desv. típ.	,08	Desv. típ.	,07
Asimetría	,65	Asimetría	,57
Error típ. de asimetría	,42	Error típ. de asimetría	,42
Curtosis	-,81	Curtosis	,19
Error típ. de curtosis	,83	Error típ. de curtosis	,83
Rango	,28	Rango	,29
Mínimo	,16	Mínimo	,21
Máximo	,45	Máximo	,50
Percentil 10	,19	Percentil 10	,23
Percentil 90	,41	Percentil 90	,48

Actividad de la enzima Catalasa en $\text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$ en vena umbilical según tipo de ligadura.

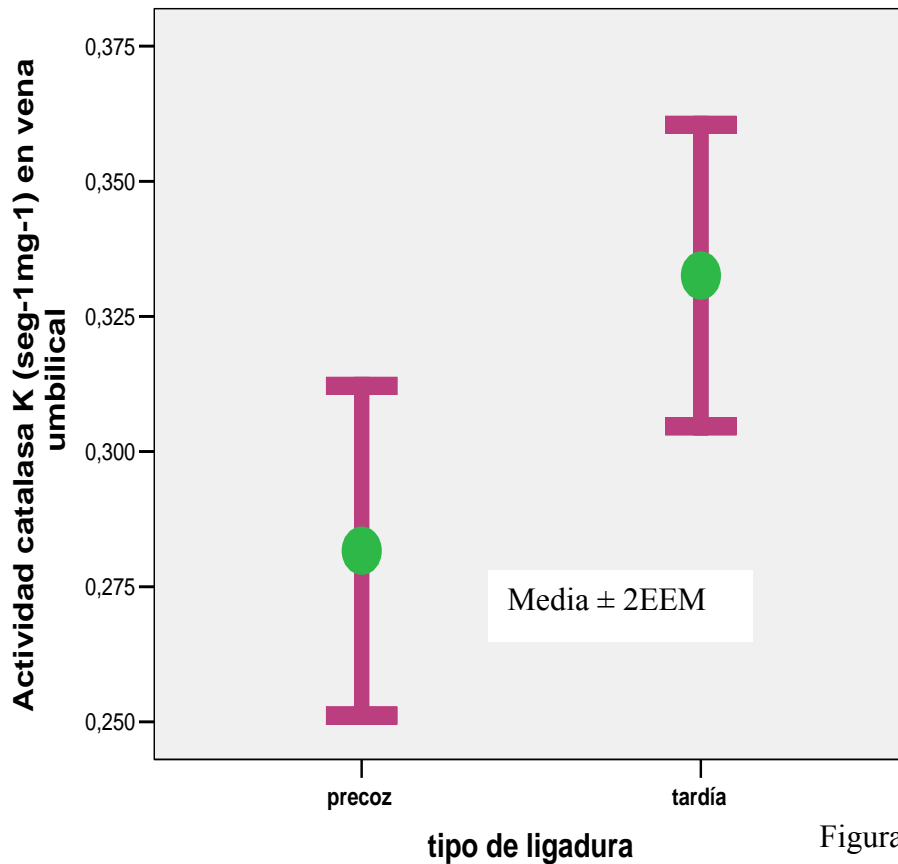


Figura 30

Test de "U" Mann y Whitney: 287,0
Z: -2,410 ($p < 0,016$)

Al considerar la actividad de la enzima catalasa determinada **en U/mg en vena** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 47,29 mediana = 40,94 moda = 40,59
- de variación:
DE = 13,86 EEM = 2,53 P₁₀ = 30,68 P₉₀ = 68,97

El valor mínimo de la muestra fue de 30,27 U/mg y el máximo de 76,03 U/mg, lo que arroja un rango de 45,75 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima catalasa **en vena** en U/mg en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 54,95 mediana = 55,90 moda = 56,76
- de variación:
DE = 12,12 EEM = 2,21 P₁₀ = 39,70 P₉₀ = 79,92

El valor mínimo de la muestra fue de 34,74 U/mg y el máximo de 85,66 U/mg, lo que arroja un rango de 50,91 U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima catalasa en U/mg en vena umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 31).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD CATALASA U/mg EN VENA UMBILICAL Y TIPO DE LIGADURA

	Ligadura precoz	Ligadura tardía	
N válidos	30	N válidos	30
Media	47,29	Media	54,95
Error típ. de la media	2,53	Error típ. de la media	2,21
Mediana	40,94	Mediana	55,90
Moda	40,59	Moda	56,76(a)
Desv. típ.	13,86	Desv. típ.	12,12
Asimetría	,66	Asimetría	,90
Error típ. de asimetría	,42	Error típ. de asimetría	,42
Curtosis	-,72	Curtosis	1,26
Error típ. de curtosis	,83	Error típ. de curtosis	,83
Rango	45,75	Rango	50,91
Mínimo	30,27	Mínimo	34,74
Máximo	76,03	Máximo	85,66
Percentil 10	30,68	Percentil 10	39,70
Percentil 90	68,97	Percentil 90	79,92

Actividad de la enzima Catalasa en U/mg en vena umbilical y tipo de ligadura.

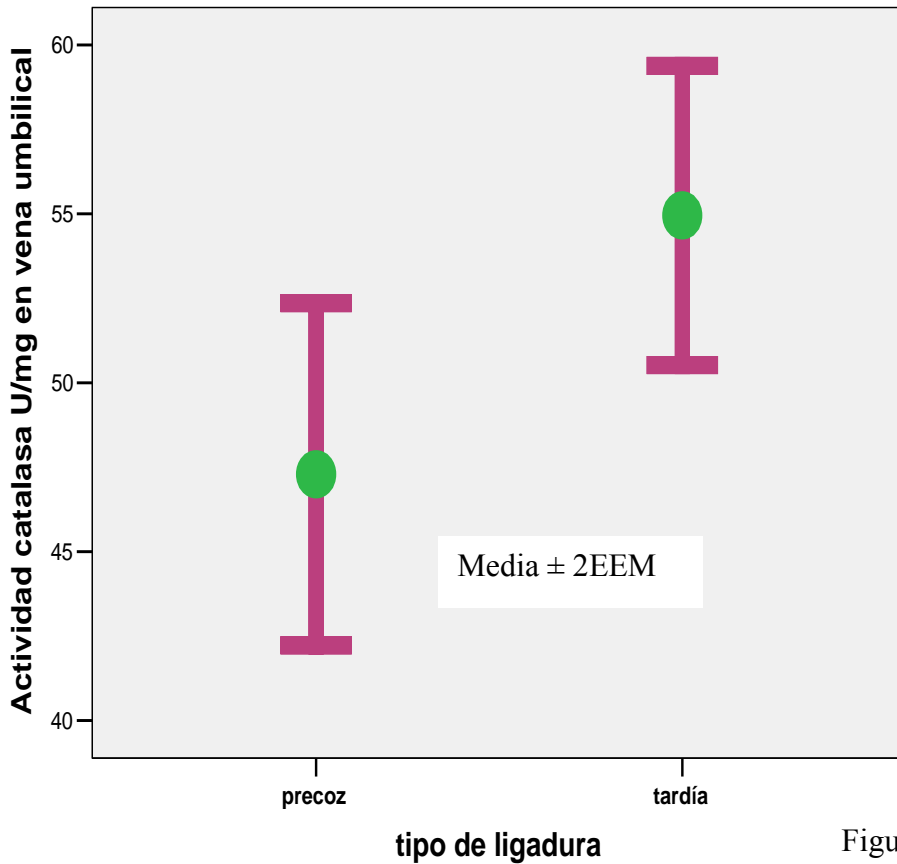


Figura 31

Test de “U” Mann y Whitney: 291,5

Z: -2,344 (p<0,019)

12.1.1.B. Actividad Catalasa en arteria umbilical.

Al considerar la actividad de la enzima catalasa determinada en **K (seg⁻¹mg⁻¹)** en **arteria** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 0,23 mediana = 0,23 moda = 0,16

- de variación:
DE = 0,05 EEM = 0,009 P₁₀ = 0,15 P₉₀ = 0,30

El valor mínimo de la muestra fue de 0,13 K(seg⁻¹mg⁻¹) y el máximo de 0,31 K(seg⁻¹mg⁻¹), lo que arroja un rango de 0,17 K(seg⁻¹mg⁻¹).

Al considerar la actividad de la enzima catalasa **en arteria** en **K (seg⁻¹mg⁻¹)** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 28 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 0,28 mediana = 0,27 moda = 0,27

- de variación:
DE = 0,08 EEM = 0,01 P₁₀ = 0,16 P₉₀ = 0,39

El valor mínimo de la muestra fue de 0,11 K(seg⁻¹mg⁻¹) y el máximo de 0,43 K(seg⁻¹mg⁻¹), lo que arroja un rango de 0,32 K (seg⁻¹mg⁻¹).

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima catalasa en K (seg⁻¹mg⁻¹) en arteria umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 32).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD CATALASA K ($\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1}$) EN ARTERIA UMBILICAL Y TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	30	N válidos	28
Media	,23	Media	,28
Error típ. de la media	,009	Error típ. de la media	,01
Mediana	,23	Mediana	,27
Moda	,16	Moda	,27
Desv. típ.	,05	Desv. típ.	,08
Asimetría	-,26	Asimetría	-,04
Error típ. de asimetría	,42	Error típ. de asimetría	,44
Curtosis	-1,15	Curtosis	-,31
Error típ. de curtosis	,83	Error típ. de curtosis	,85
Rango	,17	Rango	,32
Mínimo	,13	Mínimo	,11
Máximo	,31	Máximo	,43
Percentil 10	,15	Percentil 10	,16
Percentil 90	,30	Percentil 90	,39

Actividad de la enzima Catalasa en $\text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$ en arteria umbilical y tipo de ligadura.

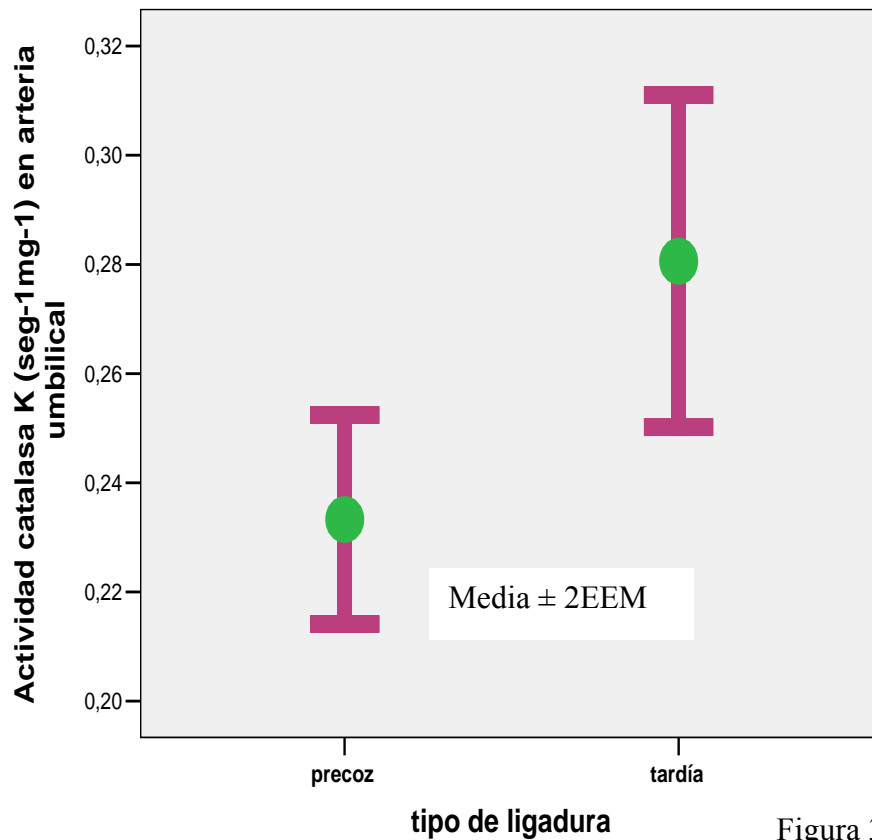


Figura 32

Test de "U" Mann y Whitney: 266,0
Z: -2,396 ($p < 0,017$)

Al considerar la actividad de la enzima catalasa determinada **en U/mg en arteria** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 39,72 mediana = 43,69 moda = 44,72
- de variación:
DE = 9,25 EEM = 1,68 P₁₀ = 26,18 P₉₀ = 50,57

El valor mínimo de la muestra fue de 25,45 U/mg y el máximo de 52,63 U/mg, lo que arroja un rango de 27,17 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima catalasa **en arteria en U/mg** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 28 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 46,28 mediana = 43,34 moda = 43,34
- de variación:
DE = 12,59 EEM = 2,37 P₁₀ = 30,61 P₉₀ = 63,09

El valor mínimo de la muestra fue de 23,05 U/mg y el máximo de 71,21 U/mg, lo que arroja un rango de 48,16U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima catalasa en U/mg en arteria umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 33).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD CATALASA U/mg EN ARTERIA UMBILICAL Y TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	30	N válidos	28
Media	39,72	Media	46,28
Error típ. de la media	1,68	Error típ. de la media	2,37
Mediana	43,69	Mediana	43,34
Moda	44,72(a)	Moda	43,34
Desv. típ.	9,25	Desv. típ.	12,59
Asimetría	-,35	Asimetría	,14
Error típ. de asimetría	,42	Error típ. de asimetría	,44
Curtosis	-1,37	Curtosis	-,64
Error típ. de curtosis	,83	Error típ. de curtosis	,85
Rango	27,17	Rango	48,16
Mínimo	25,45	Mínimo	23,05
Máximo	52,63	Máximo	71,21
Percentil 10	26,18	Percentil 10	30,61
Percentil 90	50,57	Percentil 90	63,09

Actividad de la enzima Catalasa en U/mg en arteria umbilical y tipo de ligadura.

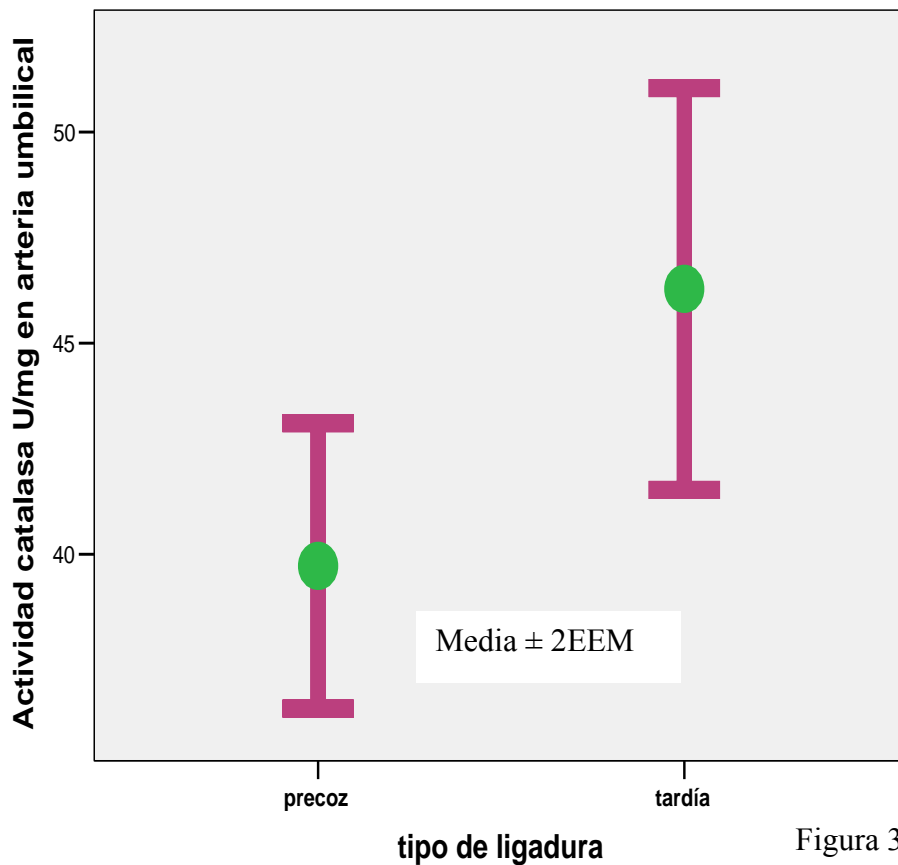


Figura 33

Test de "U" Mann y Whitney: 322,0

Z: -1,526 (p<0,127)

12.1.1.C. Correlación de actividad Catalasa.

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima catalasa determinada en **K(mg⁻¹seg⁻¹)** en **arteria y en vena** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas (Tabla 26):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad catalasa K (seg-1mg-1) en vena umbilical	0,28	0,083	30
Actividad catalasa K (seg-1mg-1) en arteria umbilical	0,23	0,052	30

Tabla 26

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad catalasa en arteria y en vena en el grupo de ligadura precoz:

$$r = 0,032. \quad p < 0,436$$

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima catalasa determinada en **K(mg⁻¹seg⁻¹)** en **arteria y en vena** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos de vena y 28 de arteria que están representados con las siguientes medidas (Tabla 27):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad catalasa K (seg-1mg-1) en vena umbilical	0,33	0,076	30
Actividad catalasa K (seg-1mg-1) en arteria umbilical	0,28	0,080	28

Tabla 27

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que existe una correlación entre la actividad catalasa en arteria y en vena en el grupo de ligadura tardía:

$$r = 0,506. \quad p < 0,003$$

Si las mismas determinaciones las medimos en U/mg, ocurre lo siguiente:

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima catalasa determinada en **U/mg en arteria y en vena** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas (Tabla 28):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad catalasa U/mg en vena umbilical	47,29	13,86	30
Actividad catalasa U/mg en arteria umbilical	39,72	9,25	30

Tabla 28

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad catalasa en arteria y en vena en el grupo de ligadura precoz:

$$r = 0,014 \quad p < 0,473$$

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima catalasa determinada en **U/mg en arteria y en vena** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos de vena y 28 de arteria que están representados con las siguientes medidas (Tabla 29):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad catalasa U/mg en vena umbilical	54,95	12,12	30
Actividad catalasa U/mg en arteria umbilical	46,28	12,59	28

Tabla 29

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que existe una correlación entre la actividad catalasa en arteria y en vena en el grupo de ligadura tardía

$$r = 0,453 \quad p < 0,008$$

12.1.1.D. Actividad de la enzima Catalasa en arteria vs vena umbilical según el tipo de ligadura del cordón umbilical.

Al considerar la actividad de la enzima catalasa determinada en $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ en **arteria** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 29 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 0,23 mediana = 0,22 moda = 0,16

- de variación:

DE = 0,05 EEM = 0,01 $P_{10} = 0,15$ $P_{90} = 0,30$

El valor mínimo de la muestra fue de 0,13 $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ y el máximo de 0,31 $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$, lo que arroja un rango de 0,17 $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$.

Al considerar la actividad de la enzima catalasa en **vena** en $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:

media = 0,28 mediana = 0,24 moda = 0,24

- de variación:

DE = 0,08 EEM = 0,01 $P_{10} = 0,19$ $P_{90} = 0,41$

El valor mínimo de la muestra fue de 0,16 $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ y el máximo de 0,45 $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$, lo que arroja un rango de 0,28 $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima catalasa en $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ en ligadura precoz cuando comparamos las muestras tomadas de arteria frente a las muestras procedentes de vena umbilical (Fig.34).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD CATALASA $K(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ EN LIGADURA PRECOZ, ARTERIA UMBILICAL vs VENA UMBILICAL.

Arteria		Vena	
N válidos	29	N válidos	30
Media	,23	Media	,28
Error típ. de la media	,01	Error típ. de la media	,01
Mediana	,22	Mediana	,24
Moda	,16	Moda	,24
Desv. típ.	,05	Desv. típ.	,08
Asimetría	-,22	Asimetría	,65
Error típ. de asimetría	,43	Error típ. de asimetría	,42
Curtosis	-1,14	Curtosis	-,81
Error típ. de curtosis	,84	Error típ. de curtosis	,83
Rango	,173	Rango	,28
Mínimo	,13	Mínimo	,16
Máximo	,31	Máximo	,45
Percentil 10	,15	Percentil 10	,19
Percentil 90	,30	Percentil 90	,41

Actividad de la enzima Catalasa en $K(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ en ligadura precoz, arteria vs vena umbilical

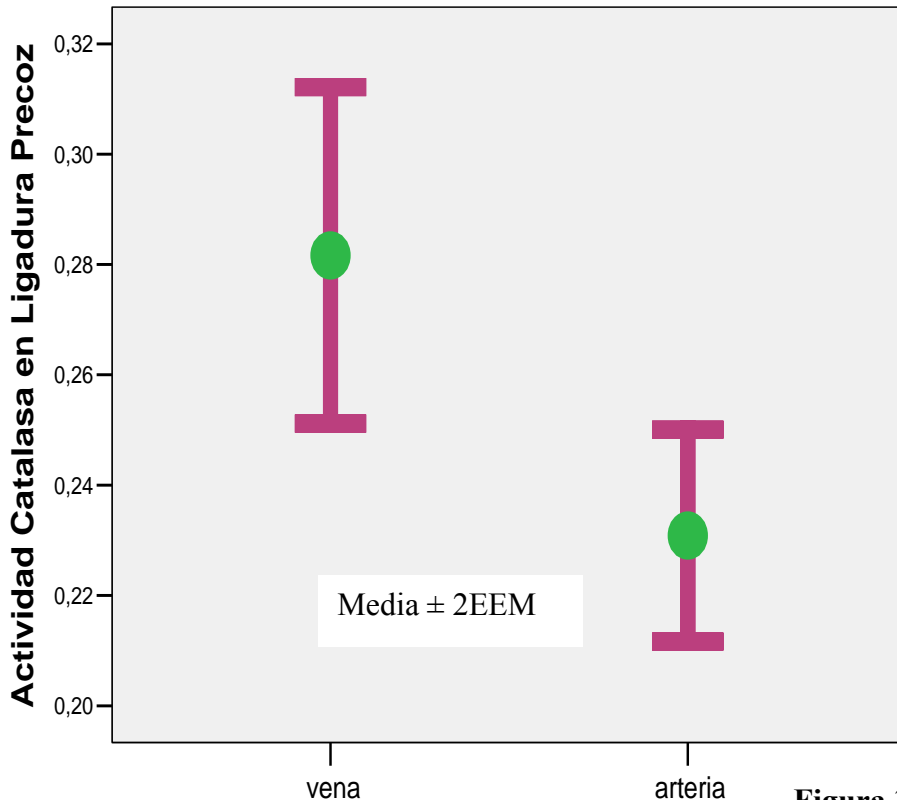


Figura 34

Vaso

Test de “U” Mann y Whitney: 298,0

Z: -2,077 (p<0,038)

Al considerar la actividad de la enzima catalasa determinada en $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ en **arteria** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 28 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 0,28 mediana = 0,27 moda = 0,27
- de variación:
DE = 0,80 EEM = 0,15 $P_{10} = 0,16$ $P_{90} = 0,39$

El valor mínimo de la muestra fue de $0,11 \text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$ y el máximo de $0,43\text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$, lo que arroja un rango de $0,32\text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$.

Al considerar la actividad de la enzima catalasa en **vena** en $\text{K}(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 0,33 mediana = 0,33 moda = 0,35
- de variación:
DE = 0,7 EEM = 0,01 $P_{10} = 0,23$ $P_{90} = 0,48$

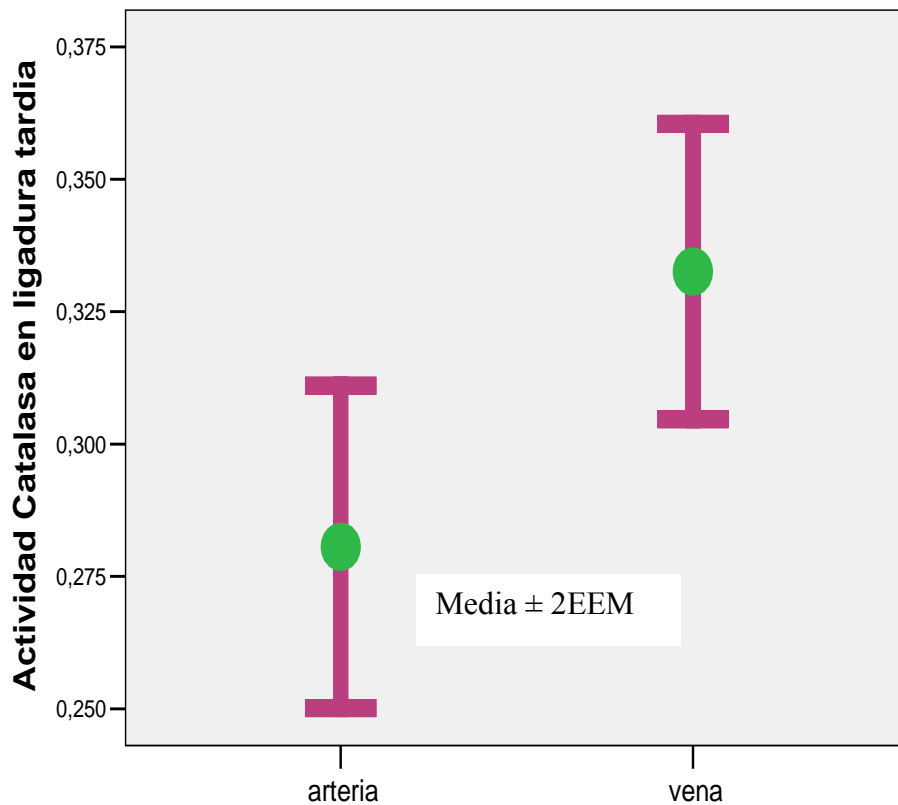
El valor mínimo de la muestra fue de $0,21 \text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$ y el máximo de $0,5 \text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$, lo que arroja un rango de $0,3\text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima catalasa en $\text{K}(\text{seg}^{-1}\text{mg}^{-1})$ en ligadura tardía cuando comparamos las muestras tomadas de arteria frente a las muestras procedentes de vena umbilical (Fig.35).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD CATALASA $K(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ EN LIGADURA TARDÍA, ARTERIA UMBILICAL vs VENA UMBILICAL.

Arteria		Vena	
N válidos	28	N válidos	30
Media	,28	Media	,33
Error típ. de la media	,01	Error típ. de la media	,01
Mediana	,27	Mediana	,33
Moda	,27	Moda	,35
Desv. típ.	,08	Desv. típ.	,07
Asimetría	,006	Asimetría	,006
Error típ. de asimetría	-,04	Error típ. de asimetría	,57
Curtosis	,44	Curtosis	,42
Error típ. de curtosis	-,31	Error típ. de curtosis	,19
Rango	0,32	Rango	0,30
Mínimo	,11	Mínimo	,21
Máximo	,43	Máximo	,50
Percentil 10	,16	Percentil 10	,23
Percentil 90	,39	Percentil 90	,48

Actividad de la enzima Catalasa en $K(\text{seg}^{-1} \text{mg}^{-1})$ en ligadura tardía, arteria vs vena umbilical



Vaso

Figura 35

Test de "U" Mann y Whitney: 279,0

Z: -2,194 ($p < 0,028$)

12.1.2. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA GLUTATIÓN PEROXIDASA.

12.1.2.A. Actividad Glutación peroxidasa en vena umbilical.

Al considerar la actividad de la enzima glutación peroxidasa determinada en U/mg **en vena** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 32 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 33,79 mediana = 33,08 moda = 15,55
- de variación:
DE = 10,05 EEM = 1,77 P₁₀ = 20,15 P₉₀ = 46,88

El valor mínimo de la muestra fue de 15,55 U/mg y el máximo de 49,69 U/mg, lo que arroja un rango de 34,14 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutación peroxidasa **en vena** en U/mg en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 31,95 mediana = 32,12 moda = 24,11
- de variación:
DE = 6,11 EEM = 1,11 P₁₀ = 24,65 P₉₀ = 38,09

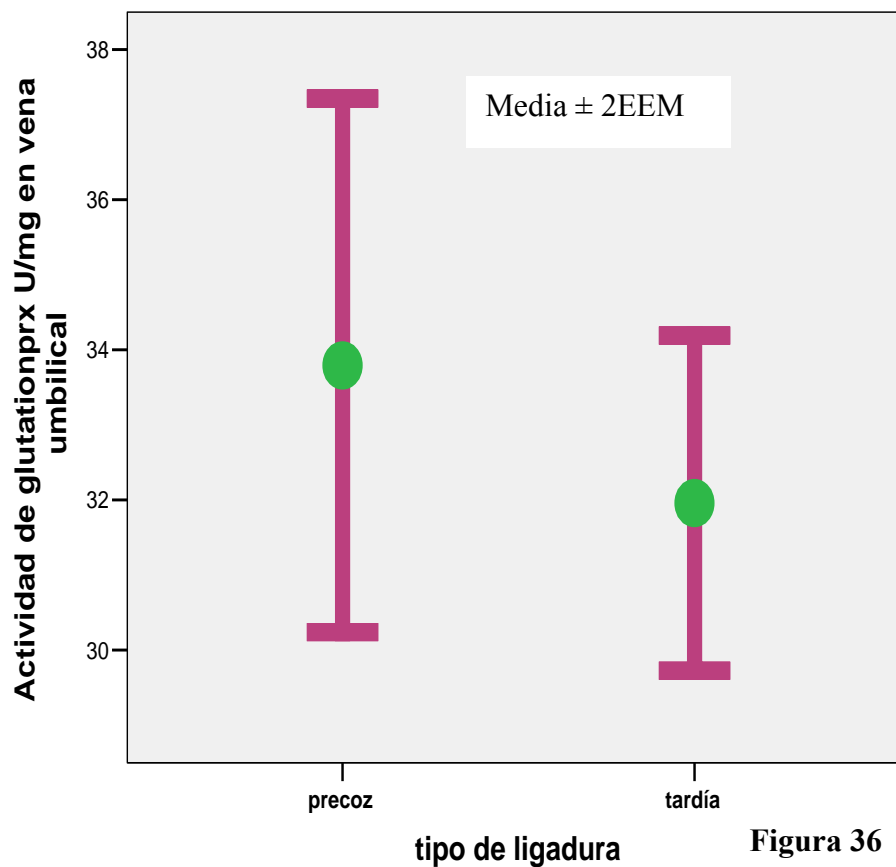
El valor mínimo de la muestra fue de 24,11 U/mg y el máximo de 53,45 U/mg, lo que arroja un rango de 29,34 U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutación peroxidasa en vena umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 36).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN VENA UMBILICAL Y TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	32	N válidos	30
Media	33,79	Media	31,95
Error típ. de la media	1,77	Error típ. de la media	1,11
Mediana	33,08	Mediana	32,12
Moda	15,55(a)	Moda	24,11(a)
Desv. típ.	10,05	Desv. típ.	6,11
Asimetría	-,006	Asimetría	1,39
Error típ. de asimetría	,41	Error típ. de asimetría	,42
Curtosis	-1,24	Curtosis	3,83
Error típ. de curtosis	,80	Error típ. de curtosis	,83
Rango	34,14	Rango	29,34
Mínimo	15,55	Mínimo	24,11
Máximo	49,69	Máximo	53,45
Percentil 10	20,15	Percentil 10	24,65
Percentil 90	46,88	Percentil 90	38,09

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en vena umbilical y tipo de ligadura.



Test de "U" Mann y Whitney: 426,0
Z: -0,761 (p<0,447)

12.1.2.B. Actividad Glutación peroxidasa en arteria umbilical.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada en U/mg **en arteria** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 33,85 mediana = 34,37 moda = 18,10
- de variación:
DE = 9,93 EEM = 1,81 P₁₀ = 19,07 P₉₀ = 46,68

El valor mínimo de la muestra fue de 18,10 U/mg y el máximo de 52,85 U/mg, lo que arroja un rango de 34,75 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en arteria** en U/mg en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 28 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 32,23 mediana = 29,32 moda = 23,32
- de variación:
DE = 8,10 EEM = 1,53 P₁₀ = 24,90 P₉₀ = 45,21

El valor mínimo de la muestra fue de 23,32 U/mg y el máximo de 55,59 U/mg, lo que arroja un rango de 32,27 U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en arteria umbilical cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 37).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN ARTERIA UMBILICAL Y TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	30	N válidos	28
Media	33,85	Media	32,23
Error típ. de la media	1,81	Error típ. de la media	1,53
Mediana	34,37	Mediana	29,32
Moda	18,10(a)	Moda	23,32(a)
Desv. típ.	9,93	Desv. típ.	8,10
Asimetría	-,03	Asimetría	1,39
Error típ. de asimetría	,42	Error típ. de asimetría	,44
Curtosis	-1,07	Curtosis	1,76
Error típ. de curtosis	,83	Error típ. de curtosis	,85
Rango	34,75	Rango	32,27
Mínimo	18,10	Mínimo	23,32
Máximo	52,85	Máximo	55,59
Percentil 10	19,07	Percentil 10	24,90
Percentil 90	46,68	Percentil 90	45,21

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en arteria umbilical y tipo de ligadura.

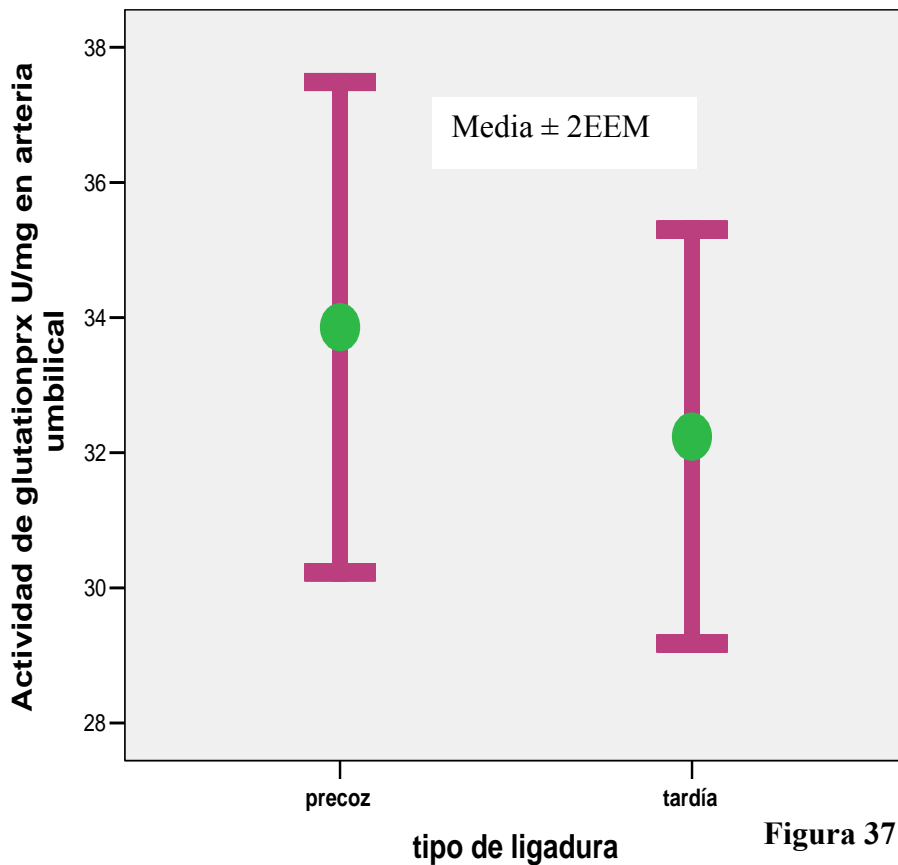


Figura 37

Test de “U” Mann y Whitney: 366,0

Z: -0,840 (p<0,401)

12.1.2.C. Actividad Glutación peroxidasa en madre al iniciar el periodo de dilatación.

Al considerar la actividad de la enzima glutación peroxidasa determinada en U/mg **en madre al iniciar el periodo de dilatación** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 12 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 62,03 mediana = 61,78 moda = 43,43
- de variación:
DE = 12,93 EEM = 3,73 P₁₀ = 44,95 P₉₀ = 82,69

El valor mínimo de la muestra fue de 43,43 U/mg y el máximo de 84,08 U/mg, lo que arroja un rango de 40,65 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutación peroxidasa **en madre al iniciar el periodo de dilatación** en U/mg en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 18 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 50,61 mediana = 52,18 moda = 24,32
- de variación:
DE = 13,25 EEM = 3,12 P₁₀ = 31,78 P₉₀ = 68,79

El valor mínimo de la muestra fue de 24,32 U/mg y el máximo de 72,26 U/mg, lo que arroja un rango de 47,94 U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutación peroxidasa en madre al iniciar el periodo de dilatación cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 38).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN MADRE AL INICIO DEL P. DILATACIÓN Y TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	12	N válidos	18
Media	62,03	Media	50,61
Error típ. de la media	3,73	Error típ. de la media	3,12
Mediana	61,78	Mediana	52,18
Moda	43,43(a)	Moda	24,32(a)
Desv. típ.	12,93	Desv. típ.	13,25
Asimetría	,31	Asimetría	-,18
Error típ. de asimetría	,63	Error típ. de asimetría	,53
Curtosis	-,96	Curtosis	-,70
Error típ. de curtosis	1,23	Error típ. de curtosis	1,03
Rango	40,65	Rango	47,94
Mínimo	43,43	Mínimo	24,32
Máximo	84,08	Máximo	72,26
Percentil 10	44,95	Percentil 10	31,78
Percentil 90	82,69	Percentil 90	68,79

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en madre al inicio del periodo de dilatación y tipo de ligadura.

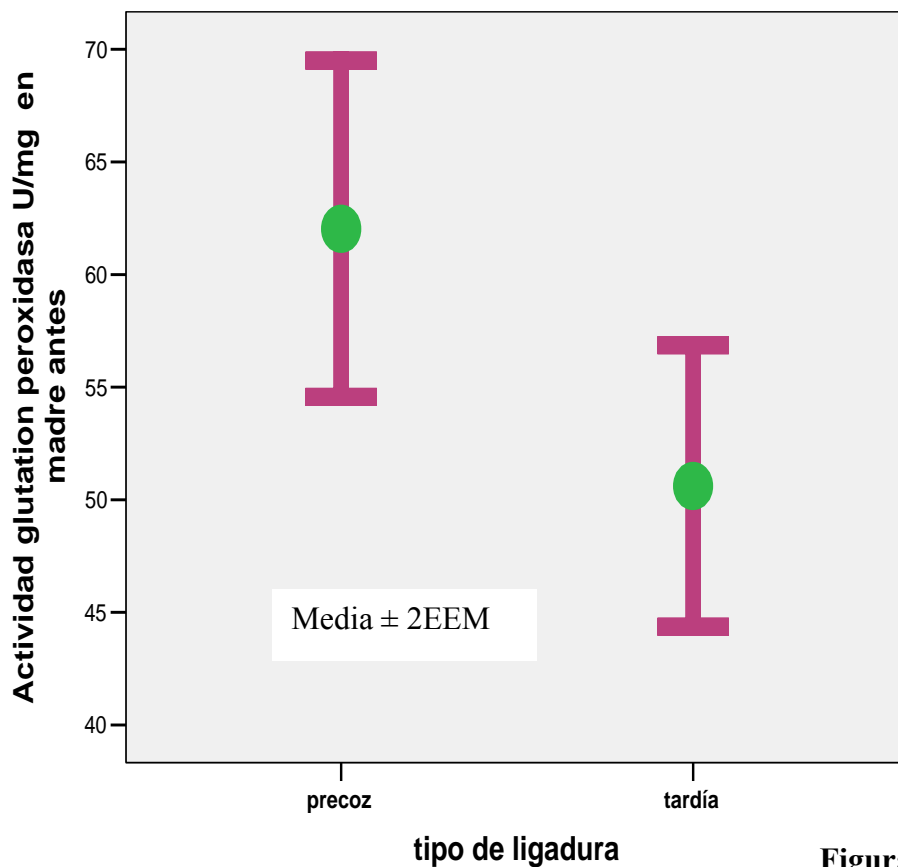


Figura 38

Test de "U" Mann y Whitney: 61,0

Z: -1,990 (p<0,047)

12.1.2.D. Actividad Glutación peroxidasa en madre en el expulsivo.

Al considerar la actividad de la enzima glutación peroxidasa determinada en U/mg **en madre en el expulsivo** (cuando la presentación alcanza III-IV plano de Hodge) en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 16 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 66,74 mediana = 65,78 moda = 48,00
- de variación:
DE = 15,06 EEM = 3,76 P₁₀ = 48,08 P₉₀ = 91,27

El valor mínimo de la muestra fue de 48,00 U/mg y el máximo de 99,11 U/mg, lo que arroja un rango de 51,11 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutación peroxidasa **en madre en el expulsivo** (cuando la presentación alcanza III-IV plano de Hodge) en U/mg en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 62,99 mediana = 62,44 moda = 45,02
- de variación:
DE = 14,89 EEM = 3,84 P₁₀ = 45,57 P₉₀ = 90,06

El valor mínimo de la muestra fue de 45,02 U/mg y el máximo de 92,14 U/mg, lo que arroja un rango de 47,12 U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutación peroxidasa en madre tras el expulsivo cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 39).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN MADRE DESPUÉS DEL EXPULSIVO Y TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	16	N válidos	15
Media	66,74	Media	62,99
Error típ. de la media	3,76	Error típ. de la media	3,84
Mediana	65,78	Mediana	62,44
Moda	48,00(a)	Moda	45,02(a)
Desv. típ.	15,06	Desv. típ.	14,89
Asimetría	,59	Asimetría	,58
Error típ. de asimetría	,56	Error típ. de asimetría	,58
Curtosis	-,16	Curtosis	-,39
Error típ. de curtosis	1,09	Error típ. de curtosis	1,12
Rango	51,11	Rango	47,12
Mínimo	48,00	Mínimo	45,02
Máximo	99,11	Máximo	92,14
Percentil 10	48,08	Percentil 10	45,57
Percentil 90	91,27	Percentil 90	90,06

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en madre en el expulsivo y tipo de ligadura.

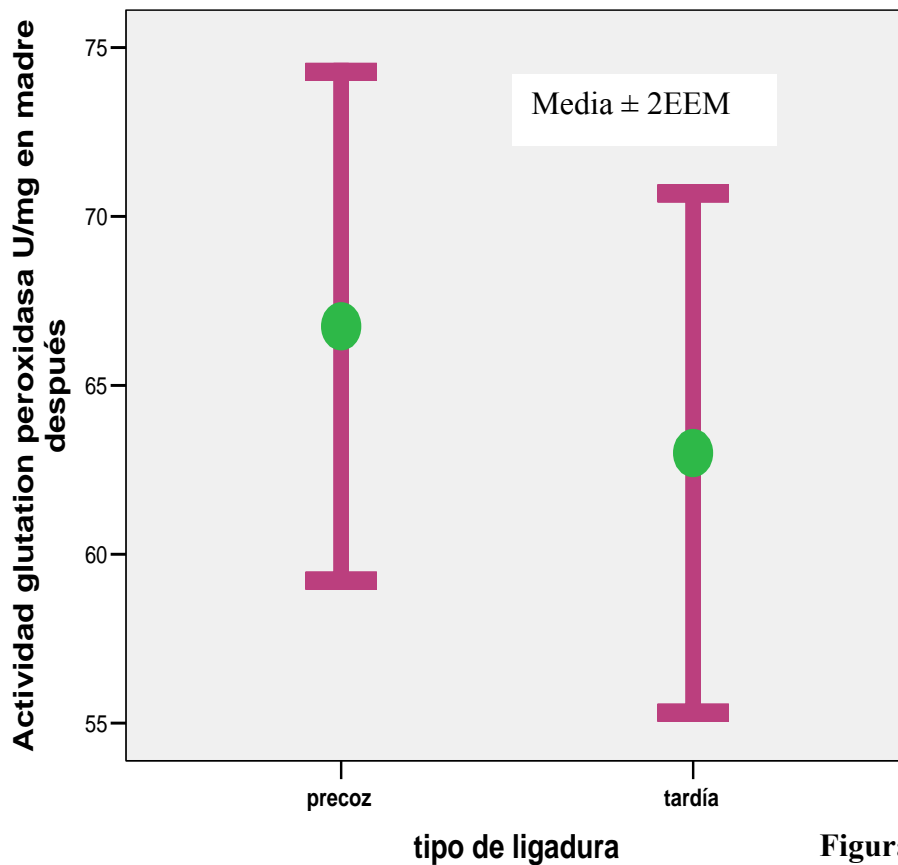


Figura 39

**Test de "U" Mann y Whitney: 104,0
Z: -0,632 (p<0,527)**

12.1.2.E. Correlación de la actividad Glutación peroxidasa en vena y arteria umbilicales.

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutación peroxidasa determinada en U/mg en **arteria y en vena** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos de arteria y 32 de vena que están representados con las siguientes medidas (Tabla 30):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad de glutaciónprx U/mg en vena umbilical	33,79	10,05	32
Actividad de glutaciónprx U/mg en arteria umbilical	33,85	9,93	30

Tabla 30

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutación peroxidasa en arteria y en vena en el grupo de ligadura precoz:

$$r = 0,193 \quad p < 0,158$$

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutación peroxidasa determinada en U/mg en **arteria y en vena** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos de vena y 28 de arteria que están representados con las siguientes medidas (Tabla 31):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad de glutaciónprx U/mg en vena umbilical	31,95	6,11	30
Actividad de glutaciónprx U/mg en arteria umbilical	32,23	8,10	28

Tabla 31

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutación peroxidasa en arteria y en vena en el grupo de ligadura tardía:

$$r = 0,195 \quad p < 0,16$$

12.1.2.F. Correlación actividad Glutación peroxidasa en madre al inicio del periodo de dilatación y en el expulsivo.

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutación peroxidasa determinada **en U/mg en madre al inicio del periodo de dilatación (MA) y madre en el momento del expulsivo (MD)**, la muestra se compone de 30 casos de MA y 31 de MD que están representados con las siguientes medidas (Tabla 32):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutación peroxidasa U/mg en MA	55,18	14,10	30
Actividad glutación peroxidasa U/mg en MD	64,93	14,85	31

Tabla 32

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutación peroxidasa en sangre venosa materna y MD:

$$r = 0,236 \quad p < 0,123.$$

Además hemos desglosado estas muestras entre los casos sometidos a ligadura precoz y ligadura tardía del cordón umbilical, obteniendo los siguientes resultados.

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada **en U/mg en madre al inicio del periodo de dilatación (MA) y madre en el momento del expulsivo (MD)**, en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 12 casos de MA y 16 de MD que están representados con las siguientes medidas (Tabla 33):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutatión peroxidasa U/mg en MA	62,03	12,93	12
Actividad glutatión peroxidasa U/mg en MD	66,74	15,06	16

Tabla 33

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutatión peroxidasa en MA y MD en el grupo de ligadura precoz:

$$r = 0,161 \quad p < 0,309.$$

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada **en U/mg en madre al inicio del periodo de dilatación (MA) y madre en el momento del expulsivo (MD)**, en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 18 casos de MA y 15 de MD que están representados con las siguientes medidas (Tabla 34):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutatión peroxidasa U/mg en MA	50,61	13,25	18
Actividad glutatión peroxidasa U/mg en MD	62,99	14,89	15

Tabla 34

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutatión peroxidasa en MA y MD en el grupo de ligadura tardía

$$r = 0,231 \quad p < 0,214.$$

12.1.2.G. Correlación actividad Glutación peroxidasa en madre en el expulsivo y en arteria umbilical.

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutación peroxidasa determinada **en U/mg en madre en el momento del expulsivo (MD) y en arteria umbilical**, la muestra se compone de 31 casos de MD y de 58 de arteria umbilical, que están representados con las siguientes medidas (Tabla 35):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutación peroxidasa U/mg en MD	64,93	14,85	31
Actividad de glutación peroxidasa U/mg en arteria umbilical	33,07	9,05	58

Tabla 35

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutación peroxidasa en MD y en arteria umbilical

$$r = 0,082 \quad p < 0,345.$$

Además hemos desglosado estas muestras entre los casos sometidos a ligadura precoz y ligadura tardía del cordón umbilical, obteniendo los siguientes resultados.

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada **en U/mg en madre en el momento del expulsivo (MD) y en arteria umbilical**, en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 16 casos de MD y de 30 de arteria umbilical, que están representados con las siguientes medidas (Tabla 36):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutatión peroxidasa U/mg en MD	66,74	15,06	16
Actividad de glutatión peroxidasa U/mg en arteria umbilical	33,85	9,93	30

Tabla 36

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutatión peroxidasa en MD y en arteria umbilical en el grupo de ligadura precoz:

$$r = 0,323 \quad p < 0,13.$$

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada **en U/mg en madre en el momento del expulsivo (MD) y en arteria umbilical**, en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 15 casos de MD y de 28 de arteria umbilical, que están representados con las siguientes medidas (Tabla 37):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutatión peroxidasa U/mg en MD	62,99	14,89	15
Actividad de glutatión peroxidasa U/mg en arteria umbilical	32,23	8,10	28

Tabla 37

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutatión peroxidasa en MD y en arteria umbilical en el grupo de ligadura tardía

$$r = -0,329 \quad p < 0,148$$

12.1.2.H. Correlación actividad Glutación peroxidasa en madre en el expulsivo y en vena umbilical.

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutación peroxidasa determinada **en U/mg en madre en el momento del expulsivo (MD) vs en vena umbilical**, la muestra se compone de 31 casos de MD y de 62 de arteria umbilical, que están representados con las siguientes medidas (Tabla 38):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutación peroxidasa U/mg en MD	64,93	14,85	31
Actividad de glutación peroxidasa U/mg en vena umbilical	32,90	8,36	62

Tabla 38

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutación peroxidasa en MD y en vena umbilical

$$r = -0,272 \quad p < 0,081$$

Además hemos desglosado estas muestras entre los casos sometidos a ligadura precoz y ligadura tardía del cordón umbilical, obteniendo los siguientes resultados.

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada **en U/mg en madre en el momento del expulsivo (MD) y en vena umbilical**, en el grupo de **ligadura precoz** la muestra se compone de 16 casos de MD y de 32 de vena umbilical, que están representados con las siguientes medidas (Tabla 39):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutatión peroxidasa U/mg en MD	66,74	15,06	16
Actividad de glutatión peroxidasa U/mg en vena umbilical	33,79	10,05	32

Tabla 39

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutatión peroxidasa en MD y en vena umbilical en el grupo de ligadura precoz

$$r = -0,307 \quad p < 0,133 .$$

Al considerar la posible correlación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada **en U/mg en madre en el momento del expulsivo (MD) y en vena umbilical**, en el grupo de **ligadura tardía** la muestra se compone de 15 casos de MD y de 30 de vena umbilical, que están representados con las siguientes medidas (Tabla 40):

	Media	Desviación estándar	N
Actividad glutatión peroxidasa U/mg en MD	62,99	14,89	15
Actividad de glutatión peroxidasa U/mg en vena umbilical	31,95	6,11	30

Tabla 40

Mediante la correlación Rho de Spearman se aprecia que no existe una correlación entre la actividad glutatión peroxidasa en MD y en vena umbilical en el grupo de ligadura tardía

$$r = -0,307 \quad p < 0,133 .$$



“Pareja Feliz” Carlos Andino

12.1.2.1. Actividad Glutación Peroxidasa según el tipo de ligadura del cordón umbilical en madre en el expulsivo vs arteria y madre en expulsivo vs vena umbilical.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada en U/mg **en madre en el expulsivo** (cuando la presentación alcanza III-IV plano de Hodge) en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 16 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 66,74 mediana = 65,78 moda = 48,00
- de variación:
DE = 15,06 EEM = 3,76 P₁₀ = 48,08 P₉₀ = 91,27

El valor mínimo de la muestra fue de 48,00 U/mg y el máximo de 99,11 U/mg, lo que arroja un rango de 51,11 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en vena umbilical** en U/mg en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 35 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 36,22 mediana = 36,66 moda = 15,55
- de variación:
DE = 14,08 EEM = 2,38 P₁₀ = 20,02 P₉₀ = 48,83

El valor mínimo de la muestra fue de 15,55 U/mg y el máximo de 84,83 U/mg, lo que arroja un rango de 69,39 U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en ligadura precoz del cordón umbilical cuando comparamos las muestras obtenidas de madre en el momento del expulsivo con las muestras de vena umbilical (Fig. 40).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN LIGADURA PRECOZ, MADRE EN EL EXPULSIVO VS VENA UMBILICAL

Madre en expulsivo		Vena umbilical	
N válidos	16	N válidos	35
Media	66,74	Media	36,22
Error típ. de la media	3,76	Error típ. de la media	2,38
Mediana	65,78	Mediana	35,66
Moda	48,00(a)	Moda	15,55(a)
Desv. típ.	15,06	Desv. típ.	14,08
Asimetría	,59	Asimetría	1,20
Error típ. de asimetría	,56	Error típ. de asimetría	,39
Curtosis	-,16	Curtosis	2,83
Error típ. de curtosis	1,09	Error típ. de curtosis	,77
Rango	51,11	Rango	69,39
Mínimo	48,00	Mínimo	15,55
Máximo	99,11	Máximo	84,94
Percentil 10	48,08	Percentil 10	20,02
Percentil 90	91,27	Percentil 90	48,83

(a)existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño.

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en ligadura precoz, madre en el expulsivo vs vena umbilical.

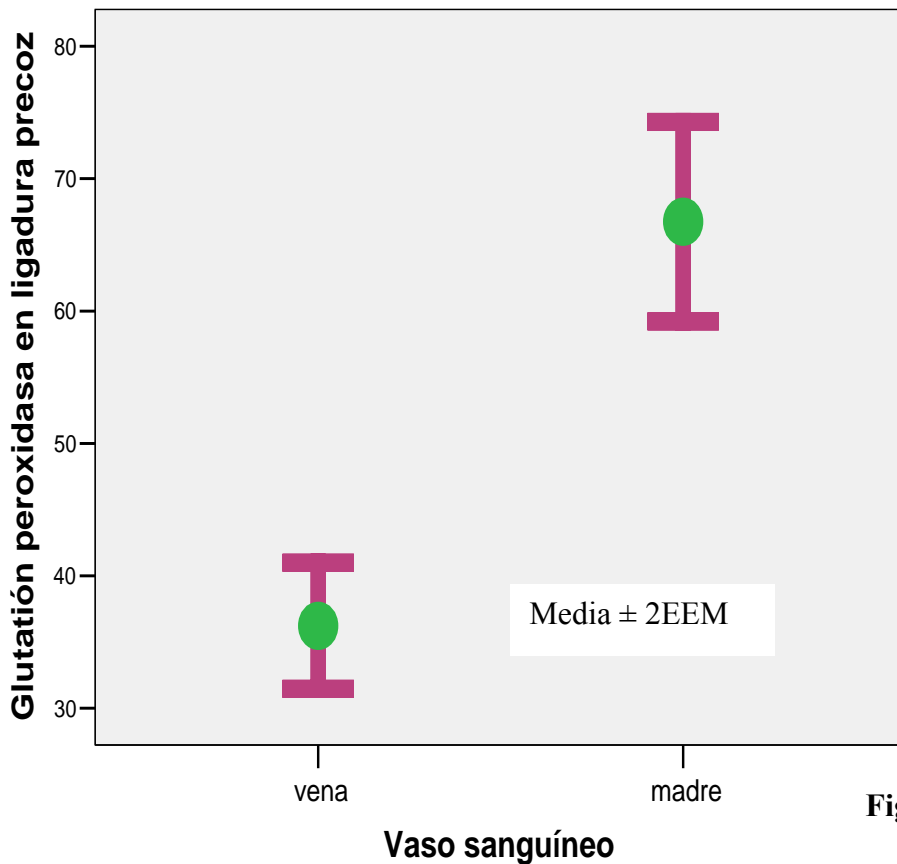


Figura 40

**Test de “U” Mann y Whitney: 27,50
Z: -5,126 (p<0,0001)**

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada en U/mg **en madre en el expulsivo** (cuando la presentación alcanza III-IV plano de Hodge) en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 16 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 66,74 mediana = 65,78 moda = 48,00
- de variación:
DE = 15,06 EEM = 3,76 P₁₀ = 48,08 P₉₀ = 91,27

El valor mínimo de la muestra fue de 48,00 U/mg y el máximo de 99,11 U/mg, lo que arroja un rango de 51,11 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en arteria umbilical en U/mg** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 33,85 mediana = 34,37 moda = 18,1
- de variación:
DE = 9,93 EEM = 1,81 P₁₀ = 19,07 P₉₀ = 46,68

El valor mínimo de la muestra fue de 18,1U/mg y el máximo de 52,85 U/mg, lo que arroja un rango de 34,75U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en ligadura precoz del cordón umbilical cuando comparamos las muestras obtenidas de madre en el momento del expulsivo con las muestras de arteria umbilical (Fig. 41).

**ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN
LIGADURA PRECOZ, MADRE EN EL EXPULSIVO VS ARTERIA
UMBILICAL**

	Madre en expulsivo		Arteria umbilical
N válidos	16	N válidos	30
Media	66,74	Media	33,85
Error típ. de la media	3,76	Error típ. de la media	1,81
Mediana	65,78	Mediana	34,37
Moda	48,00(a)	Moda	18,10(a)
Desv. típ.	15,06	Desv. típ.	9,93
Asimetría	,59	Asimetría	-,03
Error típ. de asimetría	,56	Error típ. de asimetría	,42
Curtosis	-,16	Curtosis	-1,07
Error típ. de curtosis	1,09	Error típ. de curtosis	,83
Rango	51,11	Rango	34,75
Mínimo	48,00	Mínimo	18,10
Máximo	99,11	Máximo	52,85
Percentil 10	48,08	Percentil 10	19,07
Percentil 90	91,27	Percentil 90	46,68

(a) existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño.

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en ligadura precoz, madre en el expulsivo vs arteria umbilical.

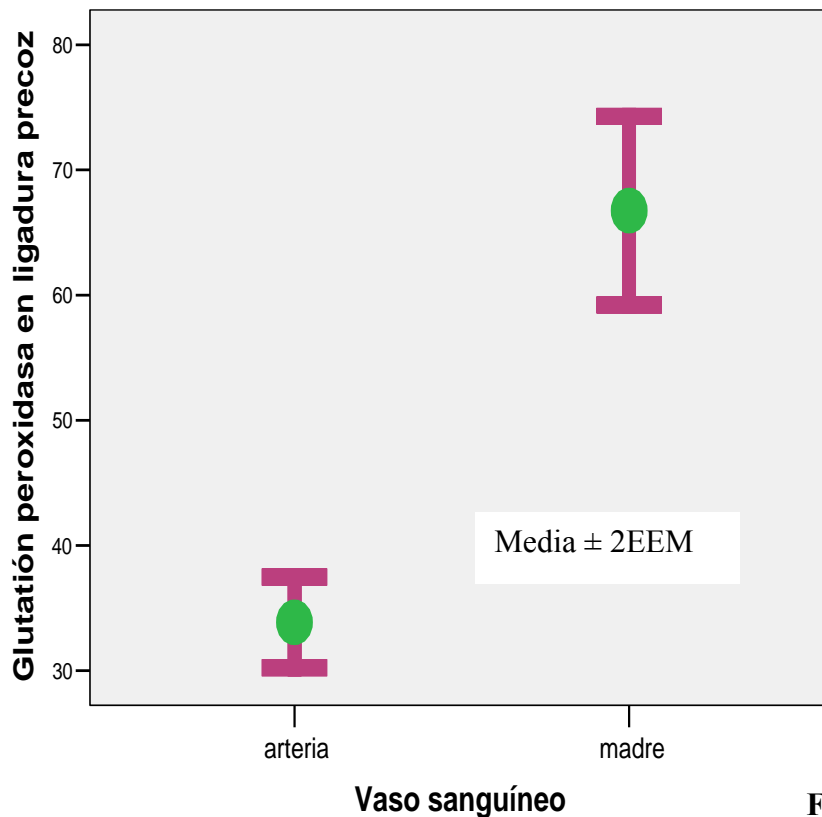


Figura 41

**Test de "U" Mann y Whitney: 7,0
Z: -5,374 (p<0,0001)**

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en vena umbilical** en **U/mg** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 35 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 36,22 mediana = 36,66 moda = 15,55
- de variación:
DE = 14,08 EEM = 2,38 P₁₀ = 20,02 P₉₀ = 48,83

El valor mínimo de la muestra fue de 15,55 U/mg y el máximo de 84,83 U/mg, lo que arroja un rango de 69,39 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en arteria umbilical** en **U/mg** en el grupo de **ligadura precoz**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 33,85 mediana = 34,37 moda = 18,1
- de variación:
DE = 9,93 EEM = 1,81 P₁₀ = 19,07 P₉₀ = 46,68

El valor mínimo de la muestra fue de 18,1U/mg y el máximo de 52,85 U/mg, lo que arroja un rango de 34,75U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en ligadura precoz del cordón umbilical cuando comparamos las muestras obtenidas de madre en el momento del expulsivo con las muestras de arteria umbilical (Fig. 42).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN LIGADURA PRECOZ, EN VENA VS ARTERIA UMBILICAL

Vena umbilical		Arteria umbilical	
N válidos	35	N válidos	30
Media	36,22	Media	33,85
Error típ. de la media	2,38	Error típ. de la media	1,81
Mediana	35,66	Mediana	34,37
Moda	15,55(a)	Moda	18,10(a)
Desv. típ.	14,08	Desv. típ.	9,93
Asimetría	1,20	Asimetría	-,03
Error típ. de asimetría	,39	Error típ. de asimetría	,42
Curtosis	2,83	Curtosis	-1,07
Error típ. de curtosis	,77	Error típ. de curtosis	,83
Rango	69,39	Rango	34,75
Mínimo	15,55	Mínimo	18,10
Máximo	84,94	Máximo	52,85
Percentil 10	20,02	Percentil 10	19,07
Percentil 90	48,83	Percentil 90	46,68

(a)existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño.

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en ligadura precoz, vena vs arteria umbilical.

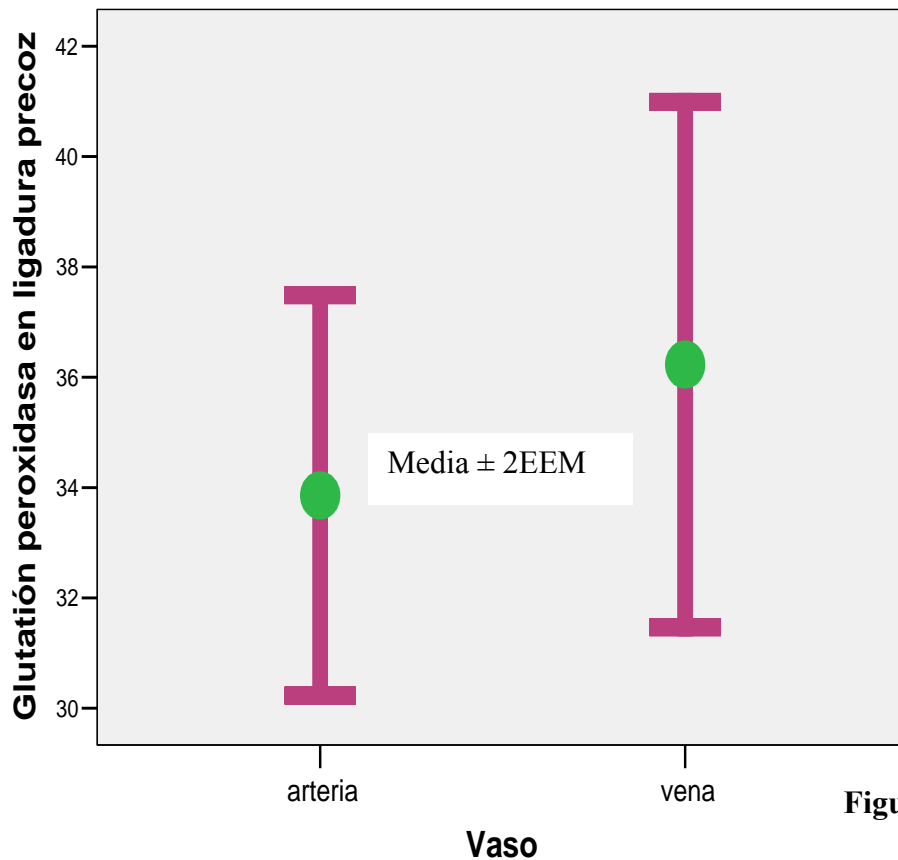


Figura 42

Test de "U" Mann y Whitney: 482,0

Z: -0,566 (p<0,572)

207

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada en U/mg **en madre en el expulsivo** (cuando la presentación alcanza III-IV plano de Hodge) en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 63 mediana = 62,44 moda = 45,02
- de variación:
DE = 14,89 EEM = 3,84 P₁₀ = 45,57 P₉₀ = 90,06

El valor mínimo de la muestra fue de 45,02 U/mg y el máximo de 92,14 U/mg, lo que arroja un rango de 47,12U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en vena umbilical en U/mg** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 31,95 mediana = 32,12 moda = 24,11
- de variación:
DE = 6,11 EEM = 1,11 P₁₀ = 24,65 P₉₀ = 38,09

El valor mínimo de la muestra fue de 24,11 U/mg y el máximo de 53,45 U/mg, lo que arroja un rango de 29,34U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en ligadura tardía del cordón umbilical cuando comparamos las muestras obtenidas de madre en el momento del expulsivo con las muestras de vena umbilical (Fig. 43).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN LIGADURA TARDIA, MADRE EN EL EXPULSIVO VS VENA UMBILICAL

Madre en expulsivo		Vena umbilical	
N válidos	15	N válidos	30
Media	63	Media	31,95
Error típ. de la media	3,84	Error típ. de la media	1,11
Mediana	62,44	Mediana	32,12
Moda	45,02(a)	Moda	24,11(a)
Desv. típ.	14,89	Desv. típ.	6,11
Asimetría	,58	Asimetría	1,39
Error típ. de asimetría	,58	Error típ. de asimetría	,42
Curtosis	-,39	Curtosis	3,83
Error típ. de curtosis	1,12	Error típ. de curtosis	,83
Rango	47,12	Rango	29,34
Mínimo	45,02	Mínimo	24,11
Máximo	92,14	Máximo	53,45
Percentil 10	45,57	Percentil 10	24,65
Percentil 90	90,06	Percentil 90	38,09

(a)existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño.

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en ligadura tardía, madre en el expulsivo vs vena umbilical.

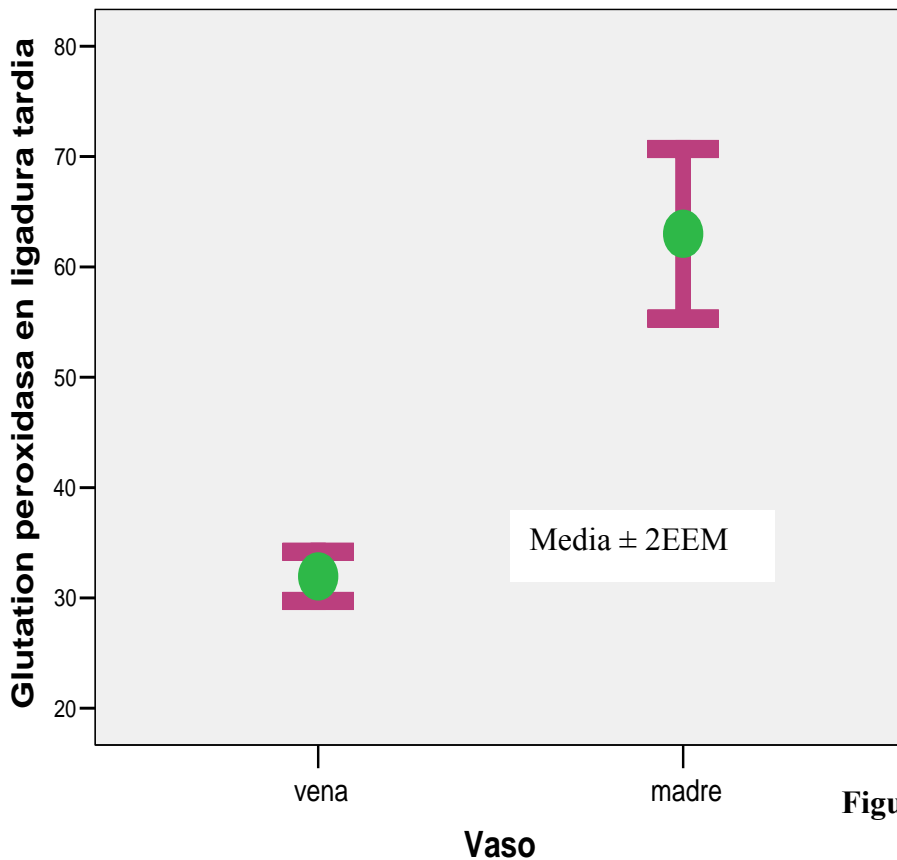


Figura 43

**Test de "U" Mann y Whitney: 5,0
Z: -5,297 (p<0,0001)**

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa determinada en U/mg **en madre en el expulsivo** (cuando la presentación alcanza III-IV plano de Hodge) en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 63 mediana = 62,44 moda = 45,02
- de variación:
DE = 14,89 EEM = 3,84 P₁₀ = 45,57 P₉₀ = 90,06

El valor mínimo de la muestra fue de 45,02 U/mg y el máximo de 92,14 U/mg, lo que arroja un rango de 47,12U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en arteria umbilical** en U/mg en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 28 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 32,23 mediana = 29,32 moda = 23,32
- de variación:
DE = 8,10 EEM = 1,53 P₁₀ = 24,90 P₉₀ = 45,21

El valor mínimo de la muestra fue de 23,32U/mg y el máximo de 55,59U/mg, lo que arroja un rango de 32,27 U/mg.

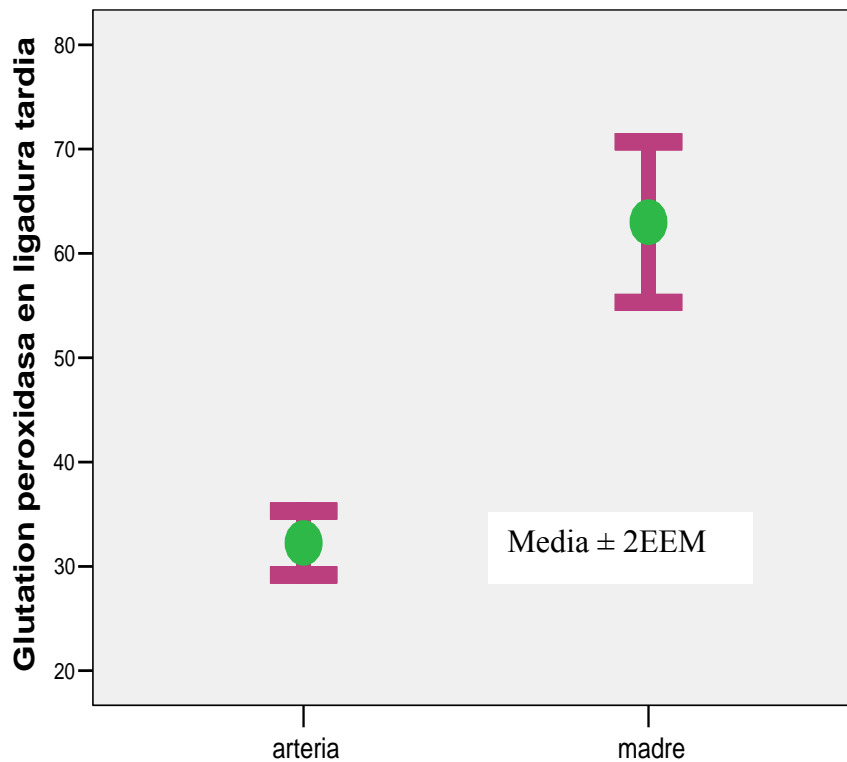
Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en ligadura tardía del cordón umbilical cuando comparamos las muestras obtenidas de madre en el momento del expulsivo con las muestras de arteria umbilical (Fig. 44).

**ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN
LIGADURA TARDIA, MADRE EN EL EXPULSIVO VS ARTERIA
UMBILICAL**

Madre en expulsivo		Arteria umbilical	
N válidos	15	N válidos	28
Media	63	Media	32,23
Error típ. de la media	3,84	Error típ. de la media	1,53
Mediana	62,44	Mediana	29,32
Moda	45,02(a)	Moda	23,32(a)
Desv. típ.	14,89	Desv. típ.	8,10
Asimetría	,58	Asimetría	1,39
Error típ. de asimetría	,58	Error típ. de asimetría	,44
Curtosis	-,39	Curtosis	1,76
Error típ. de curtosis	1,12	Error típ. de curtosis	,85
Rango	47,12	Rango	32,27
Mínimo	45,02	Mínimo	23,32
Máximo	92,14	Máximo	55,59
Percentil 10	45,57	Percentil 10	24,90
Percentil 90	90,06	Percentil 90	45,21

(a) existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño.

Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en ligadura tardía, madre en el expulsivo vs arteria umbilical.



Vaso

Figura 44

**Test de "U" Mann y Whitney: 11,0
Z: -5,071 (p<0,0001)**

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en arteria umbilical** en **U/mg** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 28 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 32,23 mediana = 29,32 moda = 23,32
- de variación:
DE = 8,10 EEM = 1,53 P₁₀ = 24,90 P₉₀ = 45,21

El valor mínimo de la muestra fue de 23,32U/mg y el máximo de 55,59U/mg, lo que arroja un rango de 32,27 U/mg.

Al considerar la actividad de la enzima glutatión peroxidasa **en vena umbilical** en **U/mg** en el grupo de **ligadura tardía**, la muestra se compone de 30 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 31,95 mediana = 32,12 moda = 24,11
- de variación:
DE = 6,11 EEM = 1,11 P₁₀ = 24,65 P₉₀ = 38,09

El valor mínimo de la muestra fue de 24,11 U/mg y el máximo de 53,45 U/mg, lo que arroja un rango de 29,34U/mg.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en la actividad de la enzima glutatión peroxidasa en ligadura tardía del cordón umbilical cuando comparamos las muestras obtenidas de arteria umbilical con las muestras de vena umbilical (Fig. 45).

ESTADÍSTICOS DE ACTIVIDAD GLUTATIÓN PEROXIDASA U/mg EN LIGADURA TARDIA, ARTERIA VS VENA UMBILICAL

Vena umbilical		Arteria umbilical	
N válidos	30	N válidos	28
Media	31,95	Media	32,23
Error típ. de la media	1,11	Error típ. de la media	1,53
Mediana	32,12	Mediana	29,32
Moda	24,11(a)	Moda	23,32(a)
Desv. típ.	6,11	Desv. típ.	8,10
Asimetría	1,39	Asimetría	1,39
Error típ. de asimetría	,42	Error típ. de asimetría	,44
Curtosis	3,83	Curtosis	1,76
Error típ. de curtosis	,83	Error típ. de curtosis	,85
Rango	29,34	Rango	32,27
Mínimo	24,11	Mínimo	23,32
Máximo	53,45	Máximo	55,59
Percentil 10	24,65	Percentil 10	24,90
Percentil 90	38,09	Percentil 90	45,21

(a) existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño.

**Actividad de la enzima Glutación peroxidasa en ligadura tardía,
arteria vs vena umbilical.**

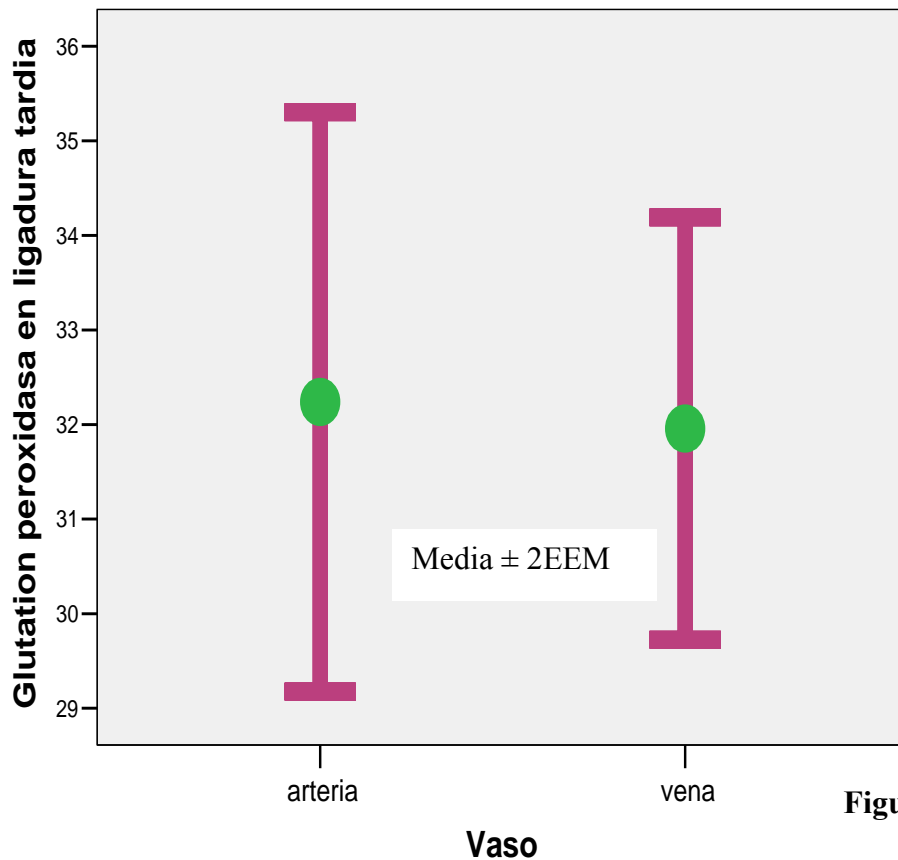


Figura 45

**Test de "U" Mann y Whitney: 279,0
Z: -2,194 (p<0,028)**

12.2. RESULTADOS DESARROLLO PSICOMOTOR.

Los resultados que se arrojan de nuestro estudio son:

12.2.1 COEFICIENTE DE DESARROLLO (QD) MOTOR ó POSTURAL (P) :

Al considerar el cociente de desarrollo en el dominio “P” en el grupo de **ligadura precoz** la muestra se compone de 35 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 120,18 mediana = 117,00 moda = 100,00
- de variación:
DE = 25,70 EEM = 4,34 P₁₀ = 91,80 P₉₀ = 159,68

El valor mínimo de la muestra fue de 85,71 % y el máximo de 193,0%, lo que arroja un rango de 107,29%.

Al considerar el cociente de desarrollo en el dominio “P” en el grupo de **ligadura tardía** la muestra se compone de 37 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 127,43 mediana = 121,00 moda = 93,00 (existen varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 27,20 EEM = 4,47 P₁₀ = 93,00 P₉₀ = 172,00

El valor mínimo de la muestra fue de 86,0% y el máximo de 188,0%, lo que arroja un rango de 102,0%.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo en el dominio “P” cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 46).

ESTADÍSTICOS DEL QD P (MOTOR ó POSTURAL)

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	35	N válidos	37
Media	120,18	Media	127,43
Error típ. de la media	4,34	Error típ. de la media	4,47
Mediana	117,00	Mediana	121,00
Moda	100,00	Moda	93,00(a)
Desv. típ.	25,70	Desv. típ.	27,20
Asimetría	,83	Asimetría	,76
Error típ. de asimetría	,39	Error típ. de asimetría	,38
Curtosis	,39	Curtosis	-,15
Error típ. de curtosis	,77	Error típ. de curtosis	,75
Rango	107,29	Rango	102,00
Mínimo	85,71	Mínimo	86,00
Máximo	193,00	Máximo	188,00
Percentil 10	91,80	Percentil 10	93,00
Percentil 90	159,68	Percentil 90	172,00

(a) existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño.

QD P (%) y tipo de ligadura

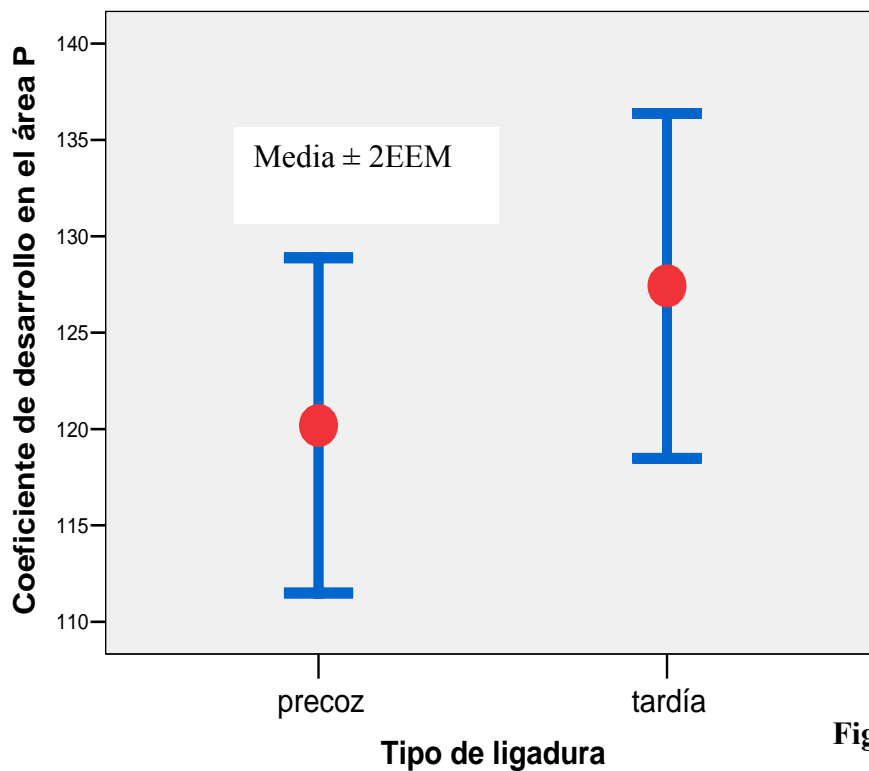


Figura 46

**Test de "U" Mann y Whitney: 551,5
Z: -1,082 (p<0,279)**

12.2.2 COEFICIENTE DE DESARROLLO (OD) COORDINACIÓN VISOMOTORA (C) :

Al considerar el cociente de desarrollo en el dominio “C” en el grupo de **ligadura precoz** la muestra se compone de 35 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 109,05 mediana = 107,00 moda = 100,00
(existen varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 12,30 EEM = 2,08 P₁₀ = 98,4 P₉₀ = 129,1

El valor mínimo de la muestra fue de 85,00 % y el máximo de 145,75%, lo que arroja un rango de 60,75 %.

Al considerar el cociente de desarrollo en el dominio “C” en el grupo de **ligadura tardía** la muestra se compone de 37 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 111,19 mediana = 111,17 moda = 100,00
- de variación:
DE = 14,92 EEM = 2,45 P₁₀ = 92,96 P₉₀ = 129,77

El valor mínimo de la muestra fue de 90,40 % y el máximo de 153,00%, lo que arroja un rango de 62,60%.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se ha podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo en el dominio “C” cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 47).

ESTADÍSTICOS QD C (COORDINACIÓN VISOMOTORA)

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	35	N válidos	37
Media	109,05	Media	111,19
Error típ. de la media	2,08	Error típ. de la media	2,45
Mediana	107,00	Mediana	111,17
Moda	100,00a	Moda	100,00
Desv. típ.	12,30	Desv. típ.	14,92
Asimetría	1,08	Asimetría	,74
Error típ. de asimetría	,39	Error típ. de asimetría	,38
Curtosis	2,02	Curtosis	,46
Error típ. de curtosis	,77	Error típ. de curtosis	,75
Rango	60,75	Rango	62,60
Mínimo	85,00	Mínimo	90,40
Máximo	145,75	Máximo	153,00
Percentil 10	98,4	Percentil 10	92,96
Percentil 90	129,1	Percentil 90	129,77

(a) existen múltiples modas, se expone la de menor tamaño

QD C (%) y tipo de ligadura

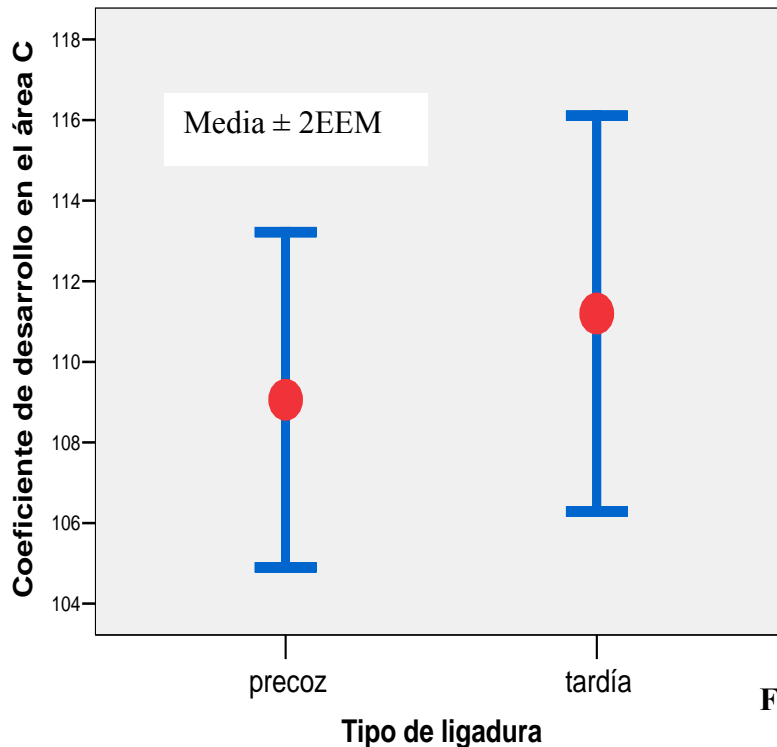


Figura 47

Test de "U" Mann y Whitney: 596
Z: -0,582 (p<0,560)

12.2.3 COEFICIENTE DE DESARROLLO (QD) LENGUAJE (L) :

Al considerar el cociente de desarrollo en el dominio “L” en el grupo de **ligadura precoz** la muestra se compone de 35 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 106,27 mediana = 106,00 moda = 100,00
- de variación:
DE = 13,92 EEM = 2,35 P₁₀ = 85,40 P₉₀ = 120,88

El valor mínimo de la muestra fue de 78,00 % y el máximo de 137,00%, lo que arroja un rango de 59,00 %.

Al considerar el cociente de desarrollo en el dominio “L” en el grupo de **ligadura tardía** la muestra se compone de 37 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 116,40 mediana = 114,00 moda = 100,00
- de variación:
DE = 16,49 EEM = 2,71 P₁₀ = 97,88 P₉₀ = 142,20

El valor mínimo de la muestra fue de 87% y el máximo de 153%, lo que arroja un rango de 66%.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo en el dominio “L” cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 48)

ESTADÍSTICOS DE QD L (LENGUAJE)

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	35	N válidos	37
Media	106,27	Media	116,40
Error típ. de la media	2,35	Error típ. de la media	2,71
Mediana	106,00	Mediana	114,00
Moda	100,00	Moda	100,00
Desv. típ.	13,92	Desv. típ.	16,49
Asimetría	-,06	Asimetría	,47
Error típ. de asimetría	,39	Error típ. de asimetría	,38
Curtosis	,22	Curtosis	-,48
Error típ. de curtosis	,77	Error típ. de curtosis	,75
Rango	59,00	Rango	66,00
Mínimo	78,00	Mínimo	87,00
Máximo	137,00	Máximo	153,00
Percentil 10	85,40	Percentil 10	97,88
Percentil 90	120,88	Percentil 90	142,20

QD L (%) y tipo de ligadura

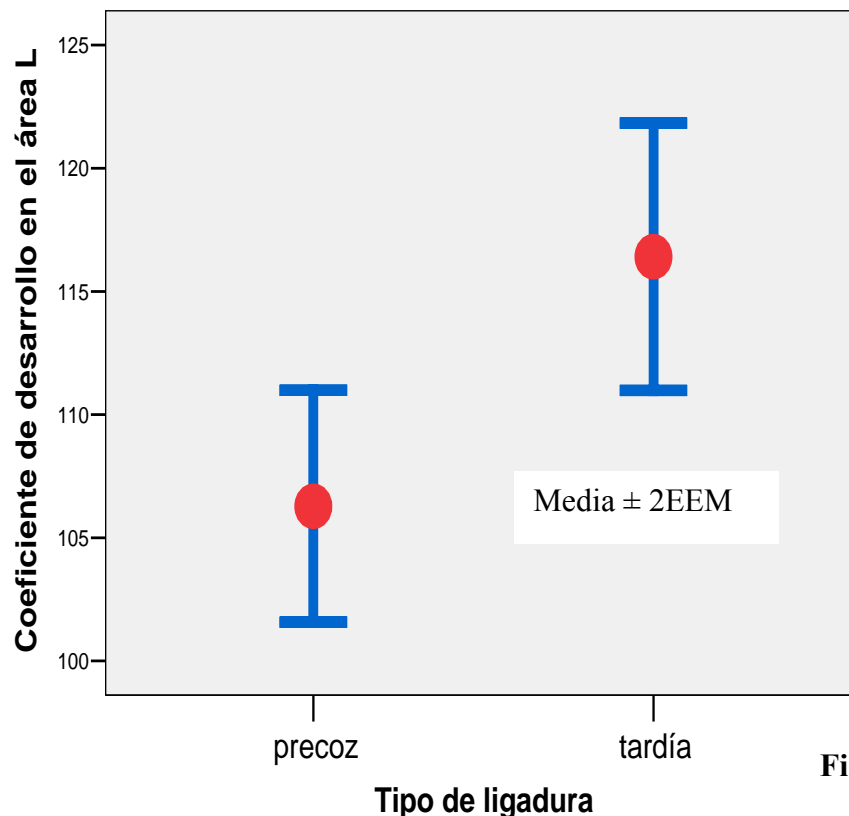


Figura 48

Test de "U" Mann y Whitney: 433
Z: -2,423 (p<0,015)

12.2.4 COEFICIENTE DE DESARROLLO (OD) RELACIONES SOCIALES (S) :

Al considerar el cociente de desarrollo en el dominio “S” en el grupo de **ligadura precoz** la muestra se compone de 35 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 118,20 mediana = 120,00 moda = 120,00
- de variación:
DE = 13,56 EEM = 2,29 P₁₀ = 102,58 P₉₀ = 136,78

El valor mínimo de la muestra fue de 94% y el máximo de 150%, lo que arroja un rango de 56%.

Al considerar el cociente de desarrollo en el dominio “S” en el grupo de **ligadura tardía** la muestra se compone de 37 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 130,50 mediana = 130,77 moda = 150,00
- de variación:
DE = 18,50 EEM = 3,04 P₁₀ = 106,96 P₉₀ = 151,80

El valor mínimo de la muestra fue de 93 % y el máximo de 171%, lo que arroja un rango de 78%.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo en el dominio “S” cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 49).

ESTADÍSTICOS QD S (RELACIONES SOCIALES)

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	35	N válidos	37
Media	118,20	Media	130,50
Error típ. de la media	2,29	Error típ. de la media	3,04
Mediana	120,00	Mediana	130,77
Moda	120,00	Moda	150,00
Desv. típ.	13,56	Desv. típ.	18,50
Asimetría	,33	Asimetría	,23
Error típ. de asimetría	,39	Error típ. de asimetría	,38
Curtosis	-,30	Curtosis	-,36
Error típ. de curtosis	,77	Error típ. de curtosis	,75
Rango	56,00	Rango	78,00
Mínimo	94,00	Mínimo	93,00
Máximo	150,00	Máximo	171,00
Percentil 10	102,58	Percentil 10	106,96
Percentil 90	136,78	Percentil 90	151,80

QD S (%) y tipo de ligadura

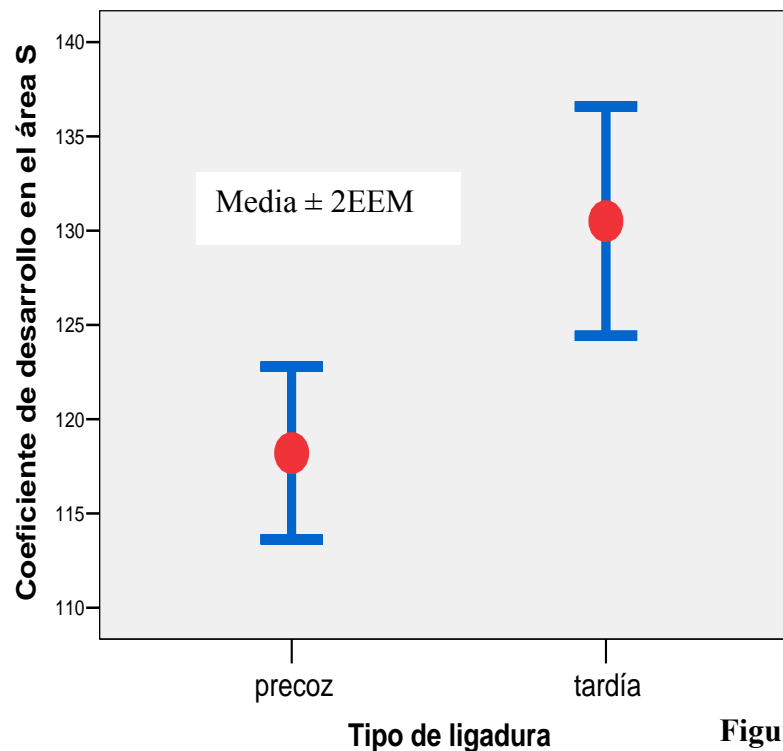


Figura 49

**Test de "U" Mann y Whitney: 392,5
Z: -2,876 (p<0,004)**

12.2.4 COEFICIENTE DE DESARROLLO (QD) GLOBAL (G) :

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en el grupo de **ligadura precoz** la muestra se compone de 35 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 113,77 mediana = 111,60 moda = 111,00 (existen varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 12,27 EEM = 2,07 P₁₀ = 98,49 P₉₀ = 135,02

El valor mínimo de la muestra fue de 89% y el máximo de 144%, lo que arroja un rango de 55,60%.

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en el grupo de **ligadura tardía** la muestra se compone de 37 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 121,36 mediana = 120,80 moda = 125,00
- de variación:
DE = 16,03 EEM = 2,63 P₁₀ = 100,90 P₉₀ = 145,51

El valor mínimo de la muestra fue de 92% y el máximo de 160%, lo que arroja un rango de 68%.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo global cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 50).

ESTADÍSTICOS QD GLOBAL

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	35	N válidos	37
Media	113,77	Media	121,36
Error típ. de la media	2,07	Error típ. de la media	2,63
Mediana	111,60	Mediana	120,80
Moda	111,00a	Moda	125,00
Desv. típ.	12,27	Desv. típ.	16,03
Asimetría	,51	Asimetría	,47
Error típ. de asimetría	,39	Error típ. de asimetría	,38
Curtosis	,30	Curtosis	,05
Error típ. de curtosis	,77	Error típ. de curtosis	,75
Rango	55,60	Rango	68,00
Mínimo	89,00	Mínimo	92,00
Máximo	144,60	Máximo	160,00
Percentil 10	98,49	Percentil 10	100,90
Percentil 90	135,02	Percentil 90	145,51

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

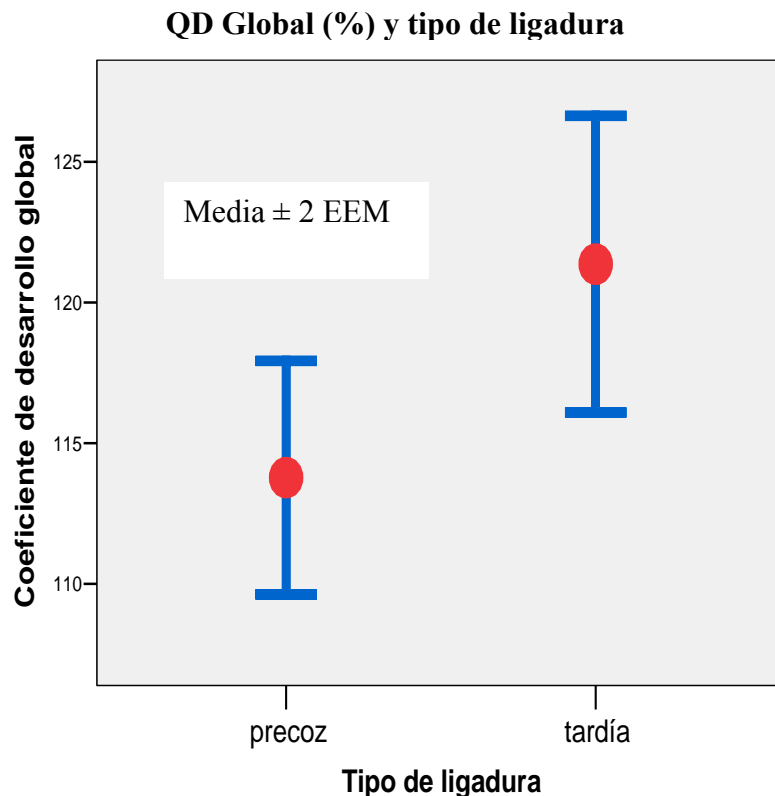


Figura 50

**Test de "U" Mann y Whitney: 454,5
Z: -2,175 (p<0,030)**

12.2.5. ANÁLISIS DEL COEFICIENTE DE DESARROLLO GLOBAL POR SEXOS .

Se ha procedido al estudio del coeficiente de desarrollo global (QDG) por sexos indistintamente del tipo de ligadura.

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en los **varones**, la muestra se compone de 28 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 116,13 mediana = 110,8500 moda = 89,00 (existen varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 18,06 EEM = 3,41 P₁₀ = 98,49 P₉₀ = 135,02

El valor mínimo de la muestra fue de 89% y el máximo de 144%, lo que arroja un rango de 55,60%.

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en las **mujeres** la muestra se compone de 44 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 118,65 mediana = 118,0 moda = 125,00
- de variación:
DE = 12,28 EEM = 1,85 P₁₀ = 105,15 P₉₀ = 136,06

El valor mínimo de la muestra fue de 96% y el máximo de 151,56%, lo que arroja un rango de 55,56%.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo global cuando comparamos los varones y las mujeres de nuestra muestra independientemente del tipo de ligadura al que fueron sometidos. (Fig. 51).

ESTADÍSTICOS QD GLOBAL POR SEXOS

Varones		Mujeres	
N válidos	28	N válidos	44
Media	116,13	Media	118,65
Error típ. de la media	3,41	Error típ. de la media	1,85
Mediana	110,85	Mediana	118,00
Moda	89,00(a)	Moda	125,00
Desv. típ.	18,06	Desv. típ.	12,28
Asimetría	,81	Asimetría	,51
Error típ. de asimetría	,44	Error típ. de asimetría	,35
Curtosis	,16	Curtosis	,37
Error típ. de curtosis	,85	Error típ. de curtosis	,70
Rango	71,00	Rango	55,56
Mínimo	89,00	Mínimo	96,00
Máximo	160,00	Máximo	151,56
Percentil 10	97,58	Percentil 10	105,15
Percentil 90	145,45	Percentil 90	136,05

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

Coefficiente de desarrollo global por sexos

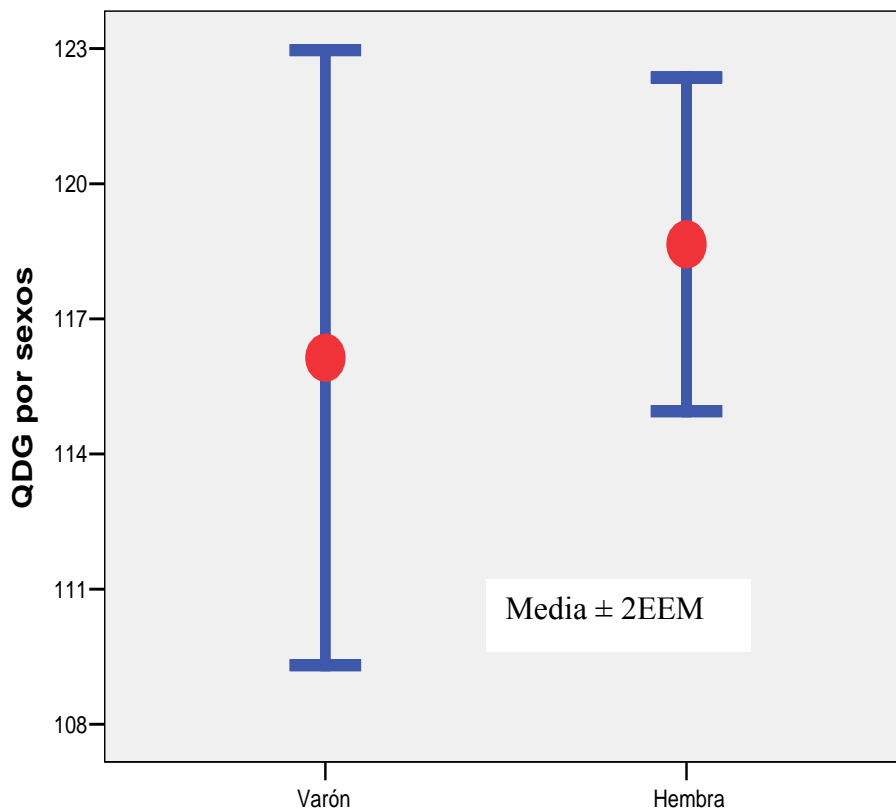


Figura 51

**Test de "U" Mann y Whitney: 521,5
Z: -1,092 (p<0,275)**

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en los **varones** sometidos a **ligadura precoz del cordón umbilical**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 110,83 mediana = 107,35 moda = 89,00 (existen varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 15,00 EEM = 3,87 P₁₀ = 94,52 P₉₀ = 139,44

El valor mínimo de la muestra fue de 89% y el máximo de 144%, lo que arroja un rango de 55,60%.

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en las **mujeres** sometidas a **ligadura precoz del cordón umbilical**, la muestra se compone de 20 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 115,98 mediana = 114,60 moda = 111,00
- de variación:
DE = 9,56 EEM = 2,13 P₁₀ = 105,2 P₉₀ = 133,81

El valor mínimo de la muestra fue de 97,20% y el máximo de 136,10%, lo que arroja un rango de 38,90%.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo global cuando comparamos por sexos las muestras de ligadura precoz de cordón umbilical (Fig. 52).

ESTADÍSTICOS QD GLOBAL POR SEXOS EN EL GRUPO DE LIGADURA PRECOZ

	Varones		Mujeres
N válidos	15	N válidos	20
Media	110,83	Media	115,98
Error típ. de la media	3,87	Error típ. de la media	2,13
Mediana	107,35	Mediana	114,60
Moda	89,00(a)	Moda	111,0(a)
Desv. típ.	15,00	Desv. típ.	9,56
Asimetría	,95	Asimetría	,51
Error típ. de asimetría	,58	Error típ. de asimetría	,51
Curtosis	,64	Curtosis	,45
Error típ. de curtosis	1,12	Error típ. de curtosis	,99
Rango	55,60	Rango	38,90
Mínimo	89,00	Mínimo	97,20
Máximo	144,60	Máximo	136,10
Percentil 10	94,52	Percentil 10	105,20
Percentil 90	139,44	Percentil 90	133,81

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

Coeficiente de desarrollo global por sexos en la ligadura precoz

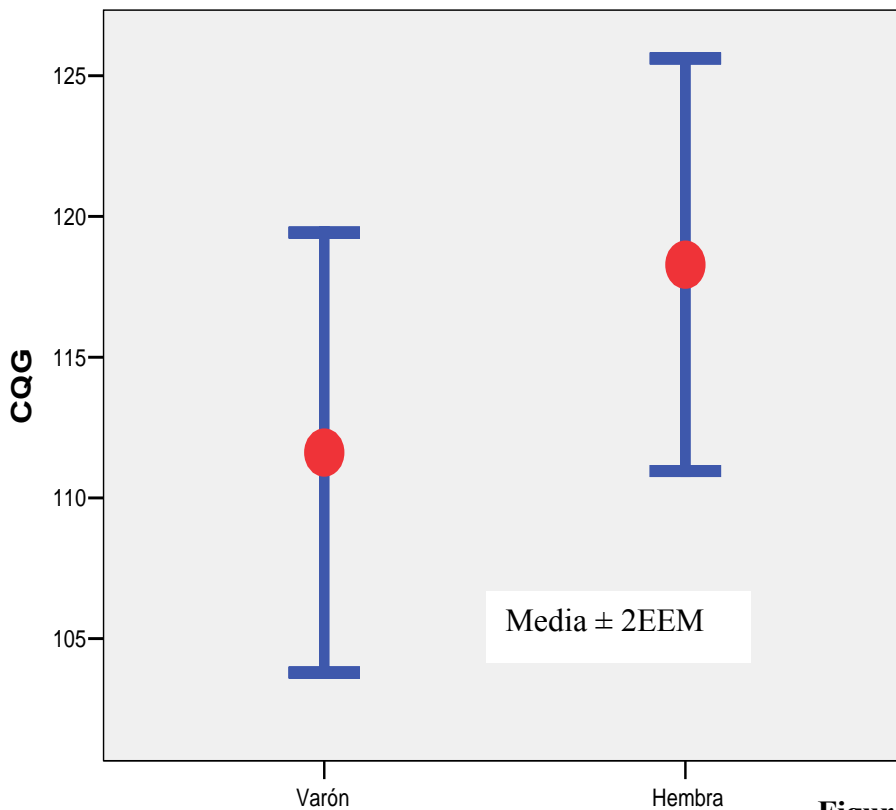


Figura 52

Ligadura Precoz

Test de "U" Mann y Whitney: 22,5
Z: -0,814 (p<0,416)

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en los **varones** sometidos a **ligadura tardía del cordón umbilical**, la muestra se compone de 13 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 122,26 mediana = 121,00 moda = 92,00 (existen varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 19,89 EEM = 5,51 P₁₀ = 96,00 P₉₀ = 157,24

El valor mínimo de la muestra fue de 92% y el máximo de 160%, lo que arroja un rango de 68,00%.

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en las **mujeres** sometidas a **ligadura tardía del cordón umbilical** la muestra se compone de 20 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 120,87 mediana = 120,40 moda = 125,00
- de variación:
DE = 13,97 EEM = 2,85 P₁₀ = 100,90 P₉₀ = 142,5

El valor mínimo de la muestra fue de 96% y el máximo de 151,56%, lo que arroja un rango de 55,56%.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo global cuando comparamos por sexos las muestras de ligadura tardía de cordón umbilical (Fig. 53).

ESTADÍSTICOS QD GLOBAL POR SEXOS EN EL GRUPO DE LIGADURA TARDÍA

Varones		Mujeres	
N válidos	13	N válidos	24
Media	122,26	Media	120,87
Error típ. de la media	5,51	Error típ. de la media	2,85
Mediana	121,00	Mediana	120,40
Moda	92,00(a)	Moda	125,00
Desv. típ.	19,89	Desv. típ.	13,97
Asimetría	,54	Asimetría	,27
Error típ. de asimetría	,61	Error típ. de asimetría	,47
Curtosis	-,22	Curtosis	,01
Error típ. de curtosis	1,19	Error típ. de curtosis	,91
Rango	68,00	Rango	55,56
Mínimo	92,00	Mínimo	96,00
Máximo	160,00	Máximo	151,56
Percentil 10	96,00	Percentil 10	100,90
Percentil 90	157,24	Percentil 90	142,50

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

Coefficiente de desarrollo global por sexos en la ligadura tardía.

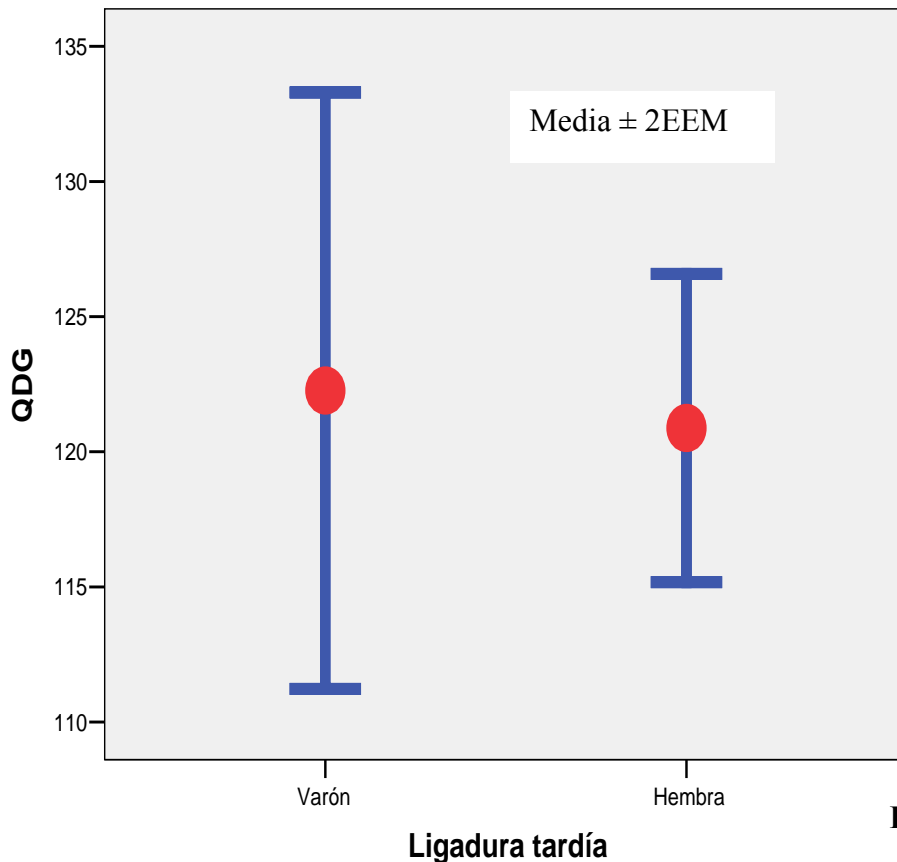


Figura 53

**Test de "U" Mann y Whitney: 154,0
Z: -0,064 (p<0,949)**

12.2.5. ANÁLISIS DE LA EVOLUCIÓN DEL DESARROLLO .

Para el estudio de la evolución del desarrollo psicomotor, se realizó un seguimiento a los niños, como obviamente, a medida que iba avanzando el estudio se perdía tamaño muestral por la adherencia de los sujetos al mismo, se ha procedido de nuevo a investigar la homogeneidad de la muestra al menos en los datos más fundamentales, como la distribución por sexos en ambas muestras.

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto al sexo del recién nacido (tabla 41):

- **Ligadura precoz:** el 70% eran niños, mientras que el 40% niñas.
- **Ligadura tardía:** eran varones el 30%, y el 60% eran mujeres.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre el sexo del recién nacido de ambas muestras de estudio al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig.54). $X^2 = 2,4$ ($p < 0,121$).

		sexo		Total
		hombre	mujer	
tipo de ligadura	precoz	7 70,0%	8 40,0%	15 50,0%
	tardía	3 30,0%	12 60,0%	15 50,0%
Total		10 100,0%	20 100,0%	30 100,0%

Tabla 41

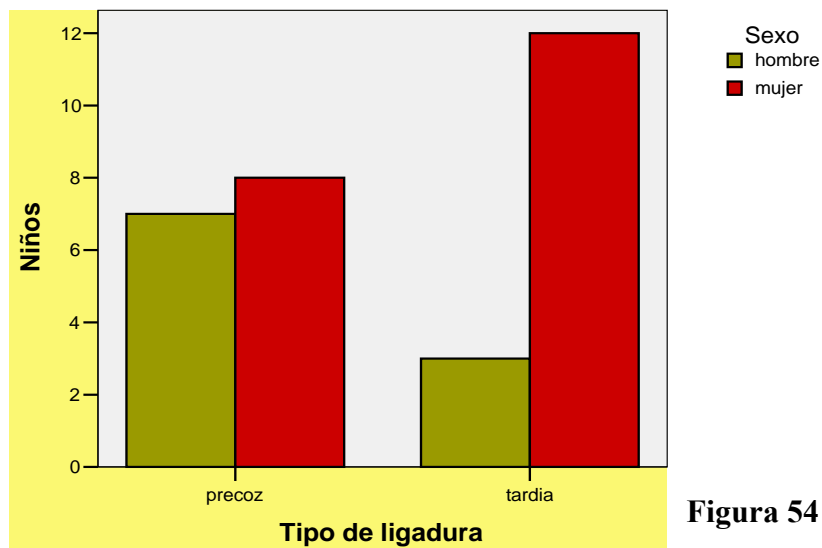


Figura 54



“Embarazada Feliz” Carlos Andino

12.2.5.A. Evolución del coeficiente de desarrollo (QD) global (G) .

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en el grupo sometido a **ligadura precoz del cordón umbilical**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 3,63 mediana = 1,79 moda = -16 (existen varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 12,08 EEM = 3,12 P₁₀ = -11,84 P₉₀ = 21,66

El valor mínimo de la muestra fue de -16 y el máximo de 22, lo que arroja un rango de 38.

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en el grupo sometido a **ligadura tardía del cordón umbilical** la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 11,62 mediana = 11,30 moda = -16
- de variación:
DE = 14,07 EEM = 3,63 P₁₀ = -9,52 P₉₀ = 31,54

El valor mínimo de la muestra fue de -16 y el máximo de 39, lo que arroja un rango de 55.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo global cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y tardía de cordón umbilical (Fig. 55).

ESTADÍSTICOS DE LA EVOLUCIÓN DEL QD GLOBAL SEGÚN EL TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	15	N válidos	15
Media	3,63	Media	11,62
Error típ. de la media	3,12	Error típ. de la media	3,63
Mediana	1,79	Mediana	11,30
Moda	-16(a)	Moda	-16(a)
Desv. típ.	12,08	Desv. típ.	14,07
Asimetría	,17	Asimetría	-,018
Error típ. de asimetría	,58	Error típ. de asimetría	,58
Curtosis	-1,10	Curtosis	,12
Error típ. de curtosis	1,12	Error típ. de curtosis	1,12
Rango	38	Rango	55
Mínimo	-16	Mínimo	-16
Máximo	22	Máximo	39
Percentil 10	-11,84	Percentil 10	-9,52
Percentil 90	21,66	Percentil 90	31,54

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

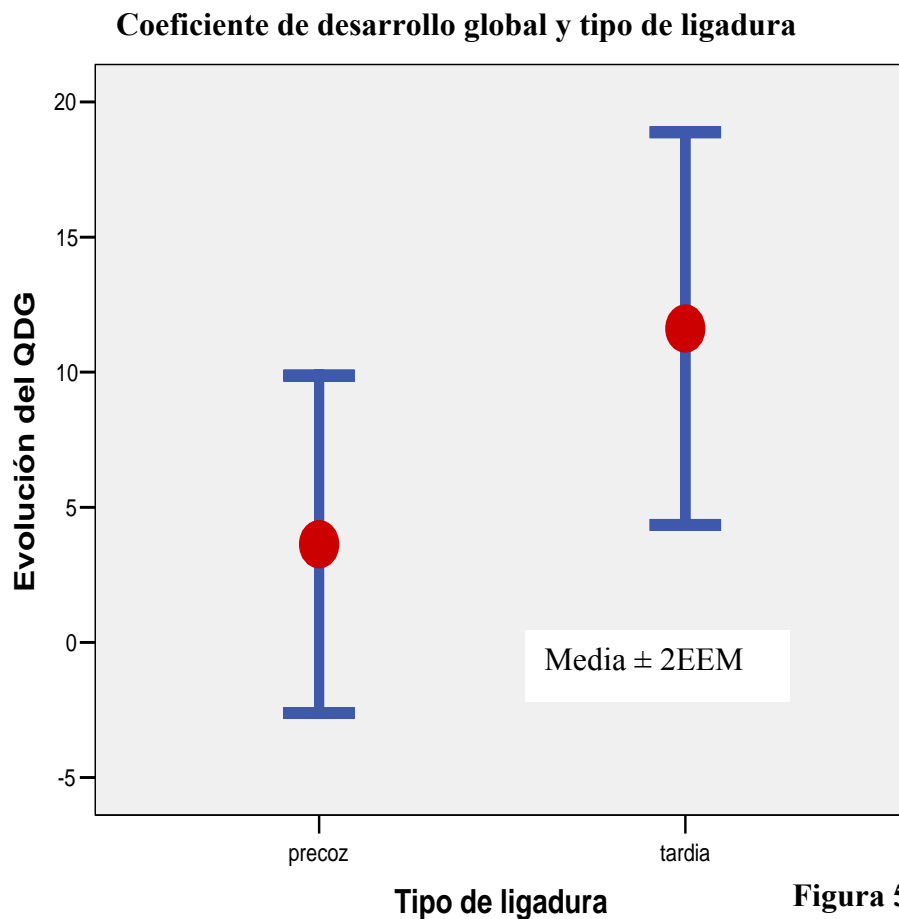


Figura 55

Test de "U" Mann y Whitney: 74,0
Z: -1,597 (p<0,11)

12.2.5.B. Evolución del coeficiente de desarrollo (QD) motor o postural (P) .

Al considerar el cociente de desarrollo motor o postural (P) en el grupo sometido a **ligadura precoz del cordón umbilical**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 5,9 mediana = 8,29 moda = 17 (existen varias modas, se expone la de menor tamaño)
- de variación:
DE = 25,25 EEM = 6,52 P₁₀ = -31,56 P₉₀ = 42,04

El valor mínimo de la muestra fue de -51 y el máximo de 56 lo que arroja un rango de 107.

Al considerar el cociente de desarrollo motor o postural (P) en el grupo sometido a **ligadura tardía del cordón umbilical** la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 26,29 mediana = 33,57 moda = -38
- de variación:
DE = 27,18 EEM = 7,01 P₁₀ = -17,6 P₉₀ = 56,4

El valor mínimo de la muestra fue de -38 y el máximo de 57, lo que arroja un rango de 95.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo motor o postural cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y tardía de cordón umbilical (Fig. 56).

ESTADÍSTICOS DE LA EVOLUCIÓN DEL QD MOTOR O POSTURAL SEGÚN EL TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	15	N válidos	15
Media	5,90	Media	26,29
Error típ. de la media	6,52	Error típ. de la media	7,01
Mediana	8,29	Mediana	33,57
Moda	17	Moda	-38(a)
Desv. típ.	25,25	Desv. típ.	27,18
Asimetría	-,30	Asimetría	-,85
Error típ. de asimetría	,58	Error típ. de asimetría	,58
Curtosis	1,10	Curtosis	,55
Error típ. de curtosis	1,12	Error típ. de curtosis	1,12
Rango	107	Rango	95
Mínimo	-51	Mínimo	-38
Máximo	56	Máximo	57
Percentil 10	-31,56	Percentil 10	-17,60
Percentil 90	42,04	Percentil 90	56,40

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

Coeficiente de desarrollo motor o postural y tipo de ligadura

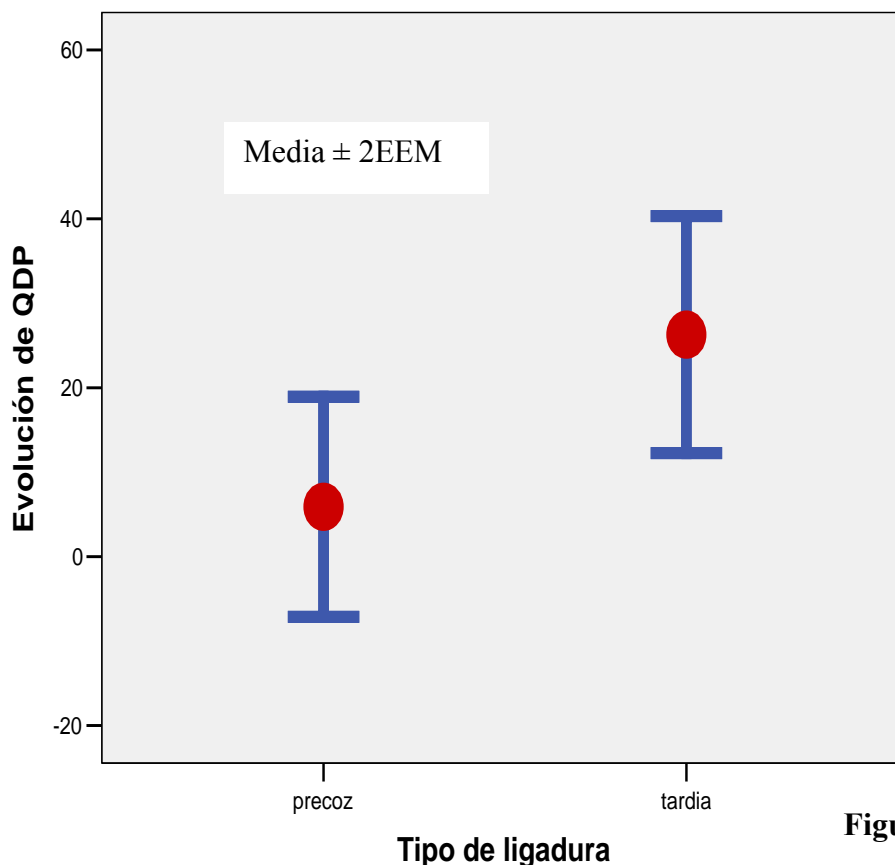


Figura 56

**Test de "U" Mann y Whitney: 61,0
Z: -2,136 (p<0,033)**

12.2.5.C. Evolución del coeficiente de desarrollo (QD) de la coordinación visomotora C.

Al considerar el cociente de desarrollo de la coordinación visomotora (C) en el grupo sometido a **ligadura precoz del cordón umbilical**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 6,91 mediana = 5,20 moda = 10
- de variación:
DE = 13,05 EEM = 3,37 P₁₀ = -7,98 P₉₀ = 30,7

El valor mínimo de la muestra fue de -9 y el máximo de 32 lo que arroja un rango de 41.

Al considerar el cociente de desarrollo de la coordinación visomotora (C) en el grupo sometido a **ligadura tardía del cordón umbilical** la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 7,54 mediana = 8,23 moda = -21
- de variación:
DE = 13,74 EEM = 3,55 P₁₀ = -13,2 P₉₀ = 26,4

El valor mínimo de la muestra fue de -21 y el máximo de 39, lo que arroja un rango de 60.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo de la coordinación visomotora cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y tardía de cordón umbilical (Fig. 57).

ESTADÍSTICOS DE LA EVOLUCIÓN DEL QD DE LA COORDINACIÓN VISOMOTORA SEGÚN EL TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	15	N válidos	15
Media	6,91	Media	7,54
Error típ. de la media	3,37	Error típ. de la media	3,55
Mediana	5,20	Mediana	8,23
Moda	10	Moda	-21(a)
Desv. típ.	13,05	Desv. típ.	13,74
Asimetría	,59	Asimetría	,14
Error típ. de asimetría	,58	Error típ. de asimetría	,58
Curtosis	-,47	Curtosis	1,62
Error típ. de curtosis	1,12	Error típ. de curtosis	1,12
Rango	41	Rango	60
Mínimo	-9	Mínimo	-21
Máximo	32	Máximo	39
Percentil 10	-7,98	Percentil 10	-13,20
Percentil 90	30,70	Percentil 90	26,40

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

Coeficiente de desarrollo de la coordinación visomotora y tipo de ligadura

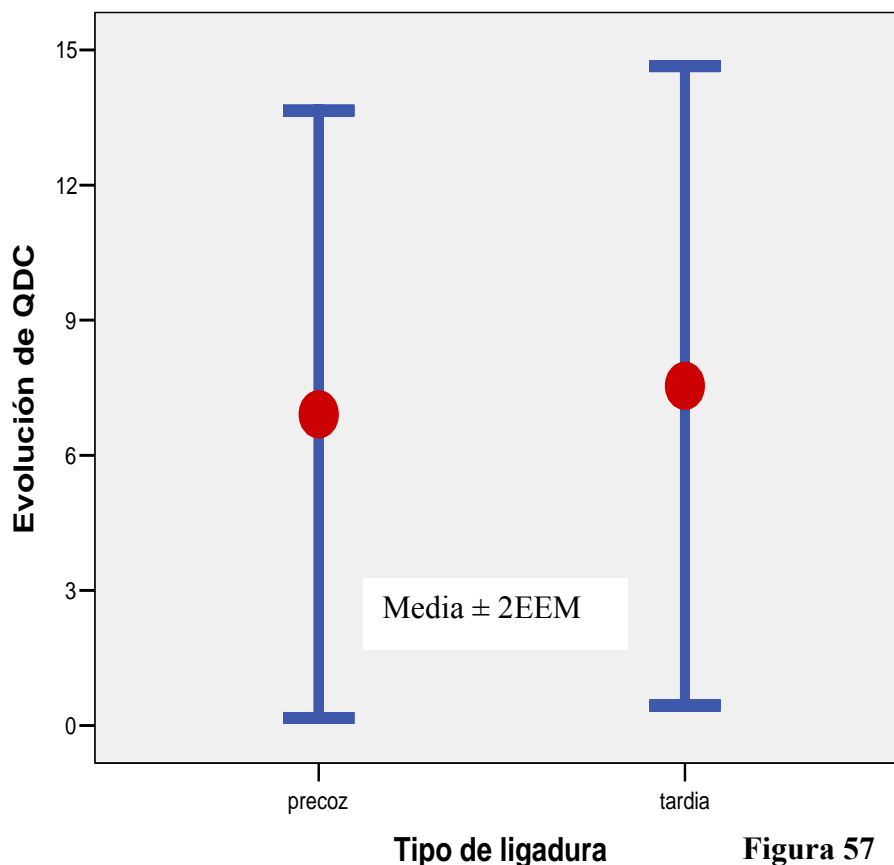


Figura 57

Test de "U" Mann y Whitney: 104,0
Z: -0,353 (p<0,724)

12.2.5.D. Evolución del coeficiente de desarrollo (OD) del lenguaje (L).

Al considerar el cociente de desarrollo del lenguaje (L) en el grupo sometido a **ligadura precoz del cordón umbilical**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 2,06 mediana = 1,29 moda = -2
- de variación:
DE = 11,66 EEM = 3,01 P₁₀ = -14,36 P₉₀ = 20,13

El valor mínimo de la muestra fue de -20 y el máximo de 22 lo que arroja un rango de 42.

Al considerar el cociente de desarrollo del lenguaje (L) en el grupo sometido a **ligadura tardía del cordón umbilical** la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 4,57 mediana = 9,40 moda = 11
- de variación:
DE = 14,6 EEM = 3,77 P₁₀ = -20,72 P₉₀ = 23,4

El valor mínimo de la muestra fue de -26 y el máximo de 24, lo que arroja un rango de 50.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo del lenguaje cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y tardía de cordón umbilical (Fig. 58).

ESTADÍSTICOS DE LA EVOLUCIÓN DEL QD DEL LENGUAJE SEGÚN EL TIPO DE LIGADURA

Ligadura precoz		Ligadura tardía	
N válidos	15	N válidos	15
Media	2,06	Media	4,57
Error típ. de la media	3,01	Error típ. de la media	3,77
Mediana	1,29	Mediana	9,40
Moda	-2(a)	Moda	11
Desv. típ.	11,66	Desv. típ.	14,60
Asimetría	-,03	Asimetría	-,72
Error típ. de asimetría	,58	Error típ. de asimetría	,58
Curtosis	-,44	Curtosis	-,14
Error típ. de curtosis	1,12	Error típ. de curtosis	1,12
Rango	42	Rango	50
Mínimo	-20	Mínimo	-26
Máximo	22	Máximo	24
Percentil 10	-14,36	Percentil 10	-20,72
Percentil 90	20,13	Percentil 90	23,40

(a)existen varias modas, se expone la de menor tamaño

Coeficiente de desarrollo del lenguaje y tipo de ligadura

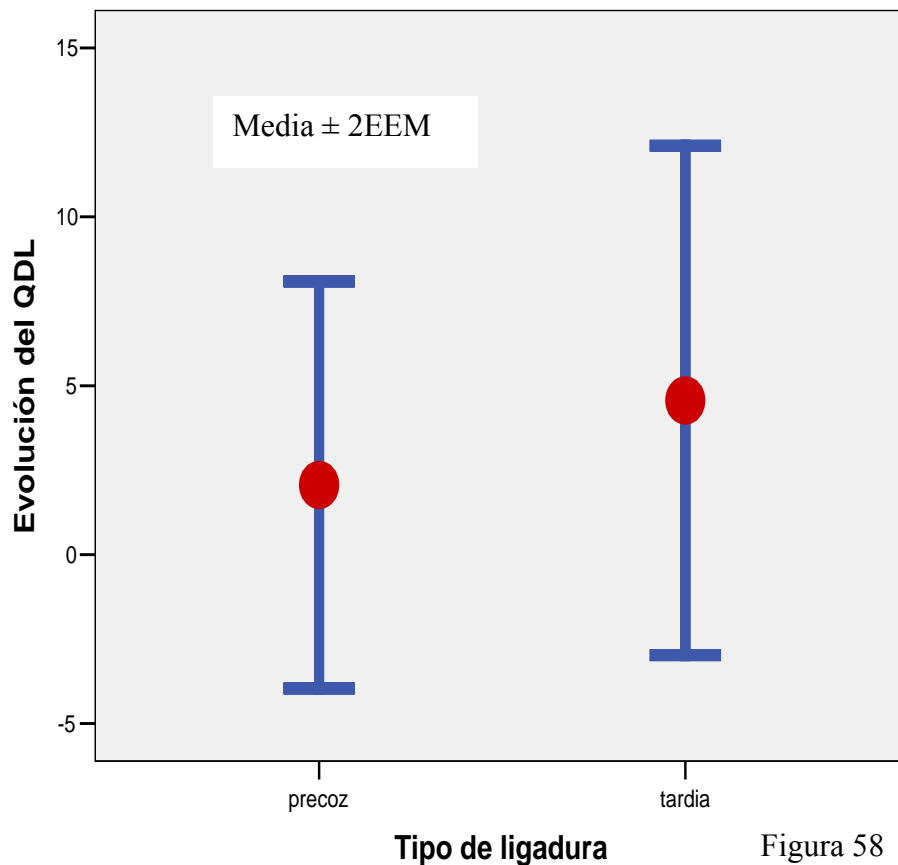


Figura 58

Test de "U" Mann y Whitney: 93,0
Z: -0,809 (p<0,418)

12.2.5.D. Evolución del coeficiente de desarrollo (OD) social (S) .

Al considerar el cociente de desarrollo social (S) en el grupo sometido a **ligadura precoz del cordón umbilical**, la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = -5,12 mediana = -12 moda = -27
- de variación:
DE = 16,28 EEM = 4,2 P₁₀ = -24,12 P₉₀ = 23,08

El valor mínimo de la muestra fue de -27 y el máximo de 26 lo que arroja un rango de 53.

Al considerar el cociente de desarrollo social (S) en el grupo sometido a **ligadura tardía del cordón umbilical** la muestra se compone de 15 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 8,19 mediana = 7,20 moda = -21
- de variación:
DE = 19,42 EEM = 5,01 P₁₀ = -20,88 P₉₀ = 38,80

El valor mínimo de la muestra fue de -21 y el máximo de 40, lo que arroja un rango de 61.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en el coeficiente de desarrollo social cuando comparamos las muestras de ligadura precoz y tardía de cordón umbilical (Fig. 59).

ESTADÍSTICOS DE LA EVOLUCIÓN DEL QD SOCIAL SEGÚN EL TIPO DE LIGADURA

	Ligadura precoz		Ligadura tardía
N válidos	15	N válidos	15
Media	-5,12	Media	8,19
Error típ. de la media	4,20	Error típ. de la media	5,01
Mediana	-12,00	Mediana	7,20
Moda	-27(a)	Moda	-21(a)
Desv. típ.	16,28	Desv. típ.	19,42
Asimetría	,57	Asimetría	,19
Error típ. de asimetría	,58	Error típ. de asimetría	,58
Curtosis	-,76	Curtosis	-,67
Error típ. de curtosis	1,12	Error típ. de curtosis	1,12
Rango	53	Rango	61
Mínimo	-27	Mínimo	-21
Máximo	26	Máximo	40
Percentil 10	-24,12	Percentil 10	-20,88
Percentil 90	23,08	Percentil 90	38,80

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

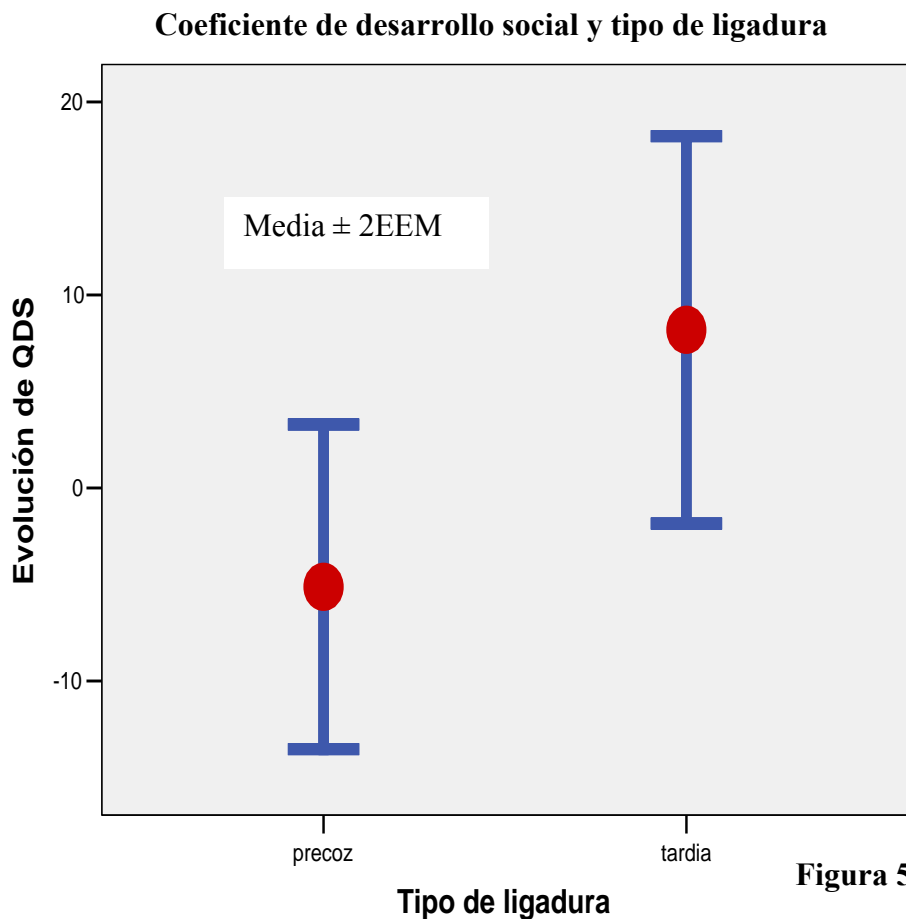


Figura 59

**Test de "U" Mann y Whitney: 66,0
Z: -1,929 (p<0,056)**

12.2.5.E. Evolución del coeficiente de desarrollo (QD) global (G) por sexos.

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en los **varones**, la muestra se compone de 10 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 5,72 mediana = 0,60 moda = -16
- de variación:
DE = 17,3 EEM = 5,47 P₁₀ = -15,35 P₉₀ = 37,71

El valor mínimo de la muestra fue de -16 y el máximo de 39 lo que arroja un rango de 55.

Al considerar el cociente de desarrollo global (G) en las **mujeres**, la muestra se compone de 20 casos que están representados con las siguientes medidas:

- de tendencia central:
media = 8,58 mediana = 8,36 moda = -16
- de variación:
DE = 11,57 EEM = 2,58 P₁₀ = -8,62 P₉₀ = 23,79

El valor mínimo de la muestra fue de -16 y el máximo de 27, lo que arroja un rango de 43.

Mediante el test no paramétrico para muestras independientes “U” de Mann y Whitney, no se han podido demostrar diferencias significativas en la evolución del coeficiente de desarrollo global cuando lo comparamos por sexos (Fig. 60).

ESTADÍSTICOS DE LA EVOLUCIÓN DEL QD GLOBAL POR SEXOS

Varones		Mujeres	
N válidos	10	N válidos	20
Media	5,72	Media	8,58
Error típ. de la media	5,47	Error típ. de la media	2,58
Mediana	,60	Mediana	8,3
Moda	-16(a)	Moda	-16(a)
Desv. típ.	17,30	Desv. típ.	11,57
Asimetría	,79	Asimetría	-,36
Error típ. de asimetría	,68	Error típ. de asimetría	,51
Curtosis	-,11	Curtosis	-,47
Error típ. de curtosis	1,33	Error típ. de curtosis	,99
Rango	55	Rango	43
Mínimo	-16	Mínimo	-16
Máximo	39	Máximo	27
Percentil 10	-15,35	Percentil 10	-8,62
Percentil 90	37,71	Percentil 90	23,79

(a) existen varias modas, se expone la de menor tamaño

Coefficiente de desarrollo global por sexos

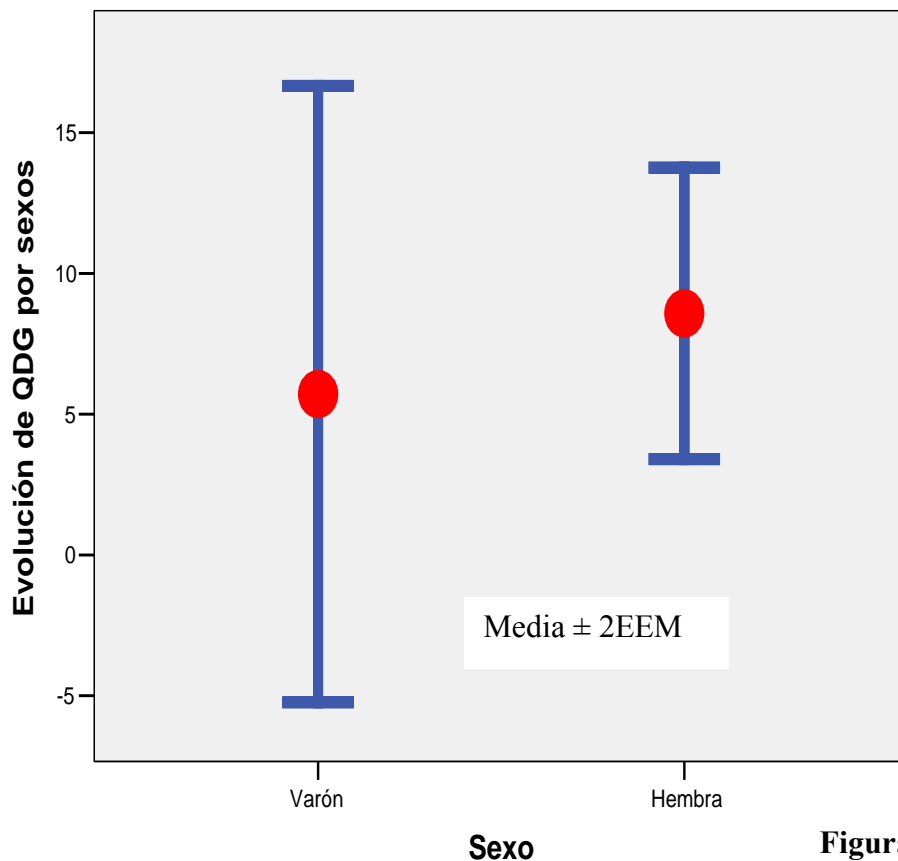


Figura 60

Test de "U" Mann y Whitney: 83,0
Z: -0,748 (p<0,455)

12.2.5. E.(1) Coeficiente de variación del desarrollo psicomotor, diferencias entre sexos.

Al observar las gráficas anteriores en las que se expresan diferencias en el QD entre sexos, encontramos que las barras que representan la media +/- dos errores estándar de la media son muy diferentes entre ambos sexos en casi todas las ocasiones, apreciándose a simple vista mayor variación entre los niños que entre las niñas. Por ello investigamos el coeficiente de variación (CV) en los casos en que se comparó la muestra por sexos, siendo (<10% muy bajo, 10-20% bajo, 20-30% medio, >30% alto):

$$\text{CV} = \text{Desviación estándar} \times 100 / \text{media}$$

COEFICIENTE DE DESARROLLO GLOBAL (QDG) POR SEXOS (independientemente del tipo de ligadura).

La desviación estándar observada entre los varones fue de 18,06 mientras que la media fue de 116,13.

$$\text{Varones: } 18,06 \times 100 / 116,13 = 15,55\%$$

La desviación estándar observada entre las mujeres fue de 12,28 mientras que la media fue de 118,26.

$$\text{Mujeres: } 12,28 \times 100 / 118,65 = 10,26\%$$

Al estudiar el coeficiente de desarrollo global por sexos independientemente del tipo de ligadura del cordón umbilical, el coeficiente de variación fue bajo en los dos grupos, aunque mayor en los varones que en las mujeres.

COEFICIENTE DE DESARROLLO GLOBAL POR SEXOS EN LA LIGADURA PRECOZ DEL CORDÓN UMBILICAL.

La desviación estándar observada entre los varones fue de 15,00 mientras que la media fue de 110,83.

$$\text{Varones: } 15,00 \times 100 / 110,83 = 13,53\%$$

La desviación estándar observada entre las mujeres fue de 9,56 mientras que la media fue de 115,98.

$$\text{Mujeres: } 9,56 \times 100 / 115,98 = 8,24\%$$

Al estudiar el coeficiente de desarrollo global por sexos en el grupo de ligadura precoz del cordón umbilical, el coeficiente de variación fue muy bajo en el grupo de las mujeres y bajo en el de los varones.

COEFICIENTE DE DESARROLLO GLOBAL POR SEXOS EN LA LIGADURA TARDÍA DEL CORDÓN UMBILICAL.

La desviación estándar observada entre los varones fue de 19,89 mientras que la media fue de 122,26.

$$\text{Varones: } 19,89 \times 100 / 122,26 = 16,26\%$$

La desviación estándar observada entre las mujeres fue de 13,97 mientras que la media fue de 120,87.

$$\text{Mujeres: } 13,97 \times 100 / 120,87 = 11,55\%$$

Al estudiar el coeficiente de desarrollo global por sexos en el grupo de ligadura tardía del cordón umbilical, el coeficiente de variación fue bajo en ambos sexos, pero mayor en el grupo de los varones.

EVOLUCIÓN DEL COEFICIENTE DE DESARROLLO GLOBAL POR SEXOS (independientemente del tipo de ligadura del cordón umbilical)

La desviación estándar observada entre los varones fue de 17,30 mientras que la media fue de 5,72.

$$\text{Varones: } 17,30 \times 100 / 5,72 = 302,44\%$$

La desviación estándar observada entre las mujeres fue de 11,57 mientras que la media fue de 8,58.

$$\text{Mujeres: } 11,57 \times 100 / 8,58 = 134,84\%$$

Al estudiar la evolución del coeficiente de desarrollo global por sexos independientemente del tipo de ligadura del cordón umbilical, el coeficiente de variación fue alto en ambos sexos, pero de nuevo mayor en el grupo de los varones.

12.2.5.F. Evolución del coeficiente de desarrollo (QD), diferencias antes-después .

A lo largo de nuestro estudio quisimos estudiar el número de niños que mejoraban su QD y los que lo empeoraban a lo largo de los seis meses que se prolongó el seguimiento, despreciando el valor cuantitativo del coeficiente de desarrollo en las dos exploraciones. Así recopilamos la cantidad de sujetos que mejoraban y que empeoraban su QD en cada grupo de ligadura, además investigamos si las diferencias tan importantes que se encontraban, entre los que mejoraban y lo que empeoraban su QD eran significativas. Averiguamos lo siguiente.

12.2.5.F. I. Coeficiente de desarrollo global (QDG).

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto a la evolución del QDG de los niños (tabla 42):

- **Ligadura precoz:** el 46,7% empeoraron, mientras que el 53,3% mejoraron.
- **Ligadura tardía:** empeoraron el 20%, y el 80% mejoraron.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre ambos grupos de estudio para el incremento y la disminución del coeficiente del desarrollo global de los niños al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig.61). $X^2 = 2,4$ ($p < 0,121$).

LIGADURA DEL CORDÓN UMBILICAL, EVOLUCIÓN DEL QDG

			coeficiente de desarrollo global		Total
			disminuye	aumenta	
tipo de ligadura	ligadura precoz	nº de niños	7	8	15
		porcentaje	46,7%	53,3%	
	ligadura tardía	nº de niños	3	12	15
		porcentaje	20,0%	80,0%	
Total		nº de niños	10	20	30

Tabla 42

Con respecto a los niños sometidos a ligadura precoz, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDG al correlacionarles con la Chi² de Pearson. (tabla 43) $X^2 = 0,067$ ($p < 0,796$).

Diferencias antes-después del QDG

	niños observados	niños esperados
disminuye	7	7,5
aumenta	8	7,5
Total	15	

Tabla 43

Con respecto a los niños sometidos a ligadura tardía, se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDG al correlacionarles con la Chi² de Pearson. (Tabla 44) $X^2 = 5,400$ ($p < 0,02$).

Diferencias antes-después del QDG

	niños observados	niños esperados
disminuye	3	7,5
aumenta	12	7,5
Total	15	

Tabla 44

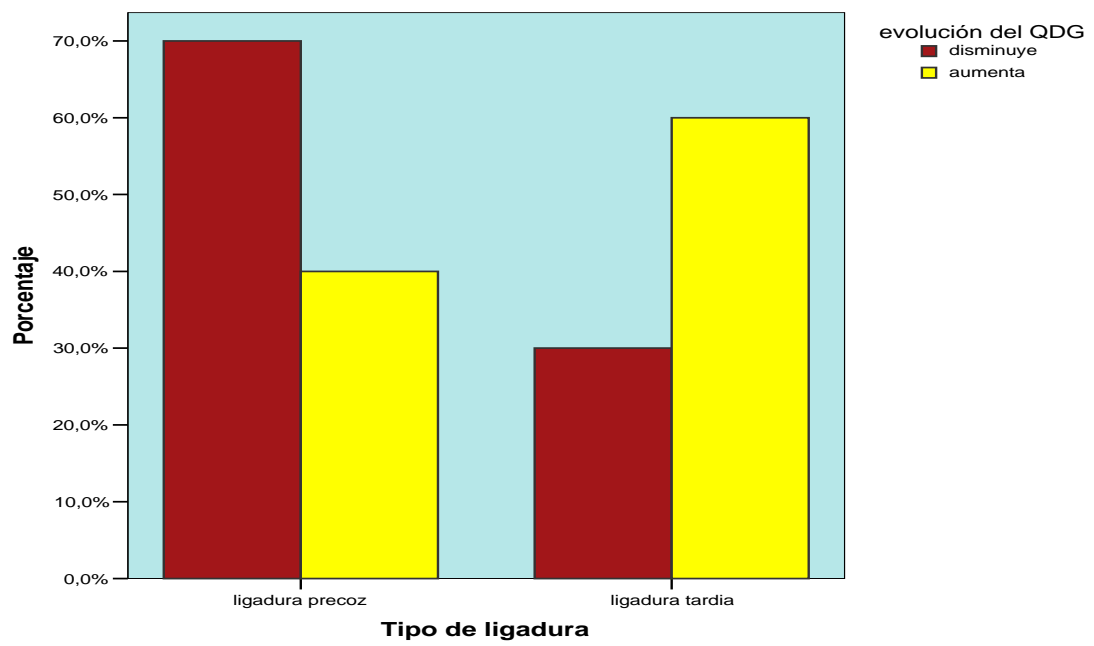


Figura 61

12.2.5.F. II. Coeficiente de desarrollo motor o postural (QDP).

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto a la evolución del QDP de los niños (tabla 45):

- **Ligadura precoz:** el 40% empeoraron, mientras que el 60% mejoraron.
- **Ligadura tardía:** empeoraron el 13,3%, y el 86,7% mejoraron.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre ambos grupos de estudio para el incremento y la disminución del coeficiente del desarrollo motor o postural de los niños al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig.62). $X^2 = 2,727$ ($p < 0,099$).

LIGADURA DEL CORDÓN UMBILICAL, EVOLUCIÓN DEL QDP

			Coeficiente de desarrollo motor o postural		Total
			disminuye	aumenta	
tipo de ligadura	ligadura precoz	nº de niños	6	9	15
		porcentaje	40,0%	60,0%	
	ligadura tardía	nº de niños	2	13	
		porcentaje	13,3%	86,7%	
Total		nº de niños	8	22	30

Tabla 45

Con respecto a los niños sometidos a ligadura precoz, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDG al correlacionarles con la Chi² de Pearson. (tabla 46) $X^2 = 0,60$ ($p < 0,439$).

Diferencias antes-después del QDP

	niños observados	niños esperados
disminuye	6	7,5
aumenta	9	7,5
Total	15	

Tabla 46

Con respecto a los niños sometidos a ligadura tardía, se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDG al correlacionarles con la Chi² de Pearson. (Tabla 47) $X^2 = 8,067$ ($p < 0,05$).

Diferencias antes-después del QDP

	niños observados	niños esperados
disminuye	2	7,5
aumenta	13	7,5
Total	15	

Tabla 47

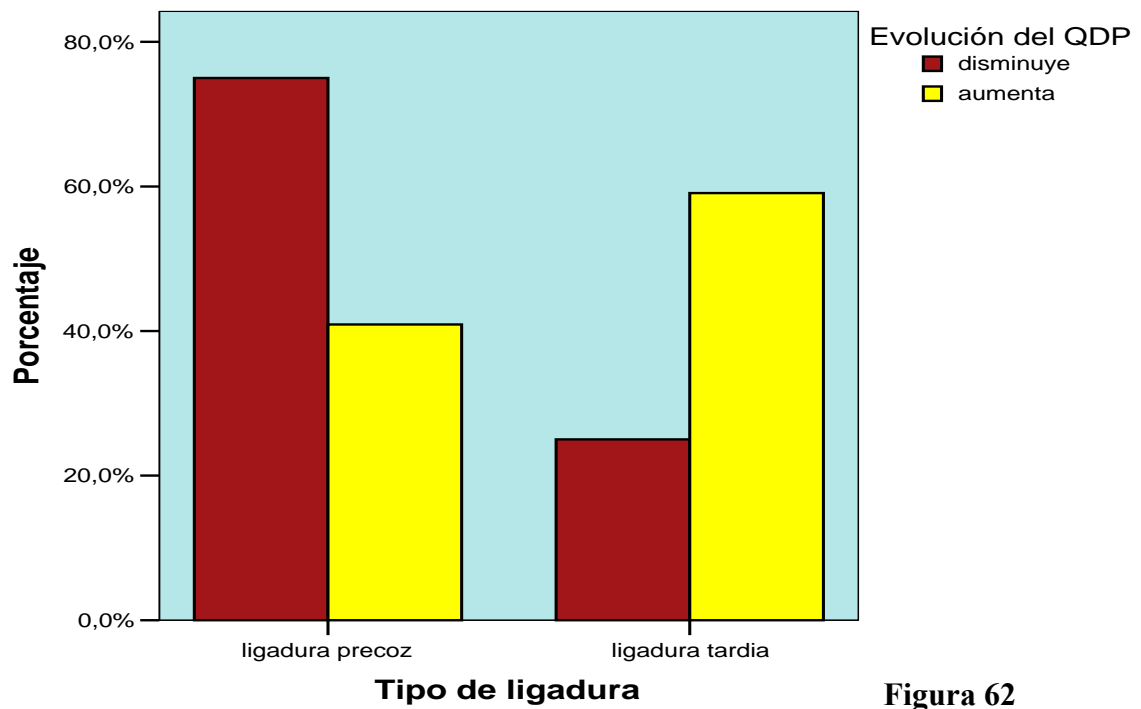


Figura 62

12.2.5.F. III. Coeficiente de desarrollo de la coordinación visomotora (QDC).

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto a la evolución del QDC de los niños (tabla 48):

- **Ligadura precoz:** el 40% empeoraron, mientras que el 60% mejoraron.
- **Ligadura tardía:** empeoraron el 26,7% , y el 73,3% mejoraron.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre ambos grupos de estudio para el incremento y la disminución del coeficiente del desarrollo motor o postural de los niños al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig.63). $X^2 = 0,60$ ($p < 0,439$).

TIPO DE LIGADURA, EVOLUCIÓN DE QDC

			evolución del QDC		Total
			empeora	mejora	
Tipo de ligadura	ligadura precoz	nº de niños	6	9	15
		porcentaje	40,0%	60,0%	
	ligadura tardia	nº de niños	4	11	15
		porcentaje	26,7%	73,3%	
Total		nº de niños	10	20	30

Tabla 48

Con respecto a los niños sometidos a ligadura precoz, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDC al correlacionarles con la Chi² de Pearson. (tabla 49) $X^2 = 0,60$ ($p < 0,439$).

Diferencias antes-después del QDC

	Niños observados	niños esperados
disminuye	6	7,5
aumenta	9	7,5
Total	15	

Tabla 49

Con respecto a los niños sometidos a ligadura tardía, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDC al correlacionarles con la Chi² de Pearson. (Tabla 50) $X^2 = 0,067$ ($p < 0,796$).

Diferencias antes-después del QDC

	niños observados	niños esperados
disminuye	4	7,5
aumenta	11	7,5
Total	15	

Tabla 50

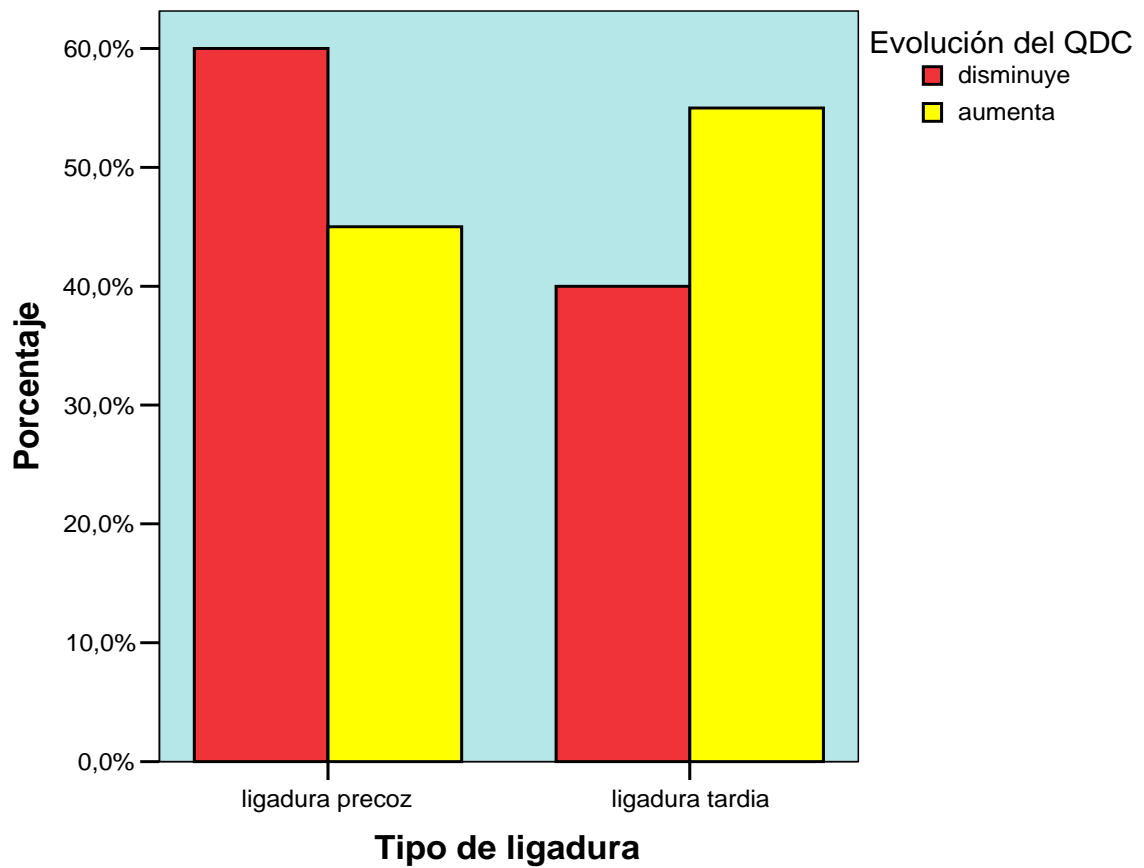


Figura 63

12.2.5.F. IV. Coeficiente de desarrollo del lenguaje (QDL).

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto a la evolución del QDL de los niños (tabla 51):

- **Ligadura precoz:** el 46,7% empeoraron, mientras que el 53,3% mejoraron.
- **Ligadura tardía:** empeoraron el 26,7%, y el 73,3% mejoraron.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre ambos grupos de estudio para el incremento y la disminución del coeficiente del desarrollo motor o postural de los niños al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig.64). $X^2 = 1,292$ ($p < 0,256$).

TIPO DE LIGADURA, EVOLUCIÓN DEL QDL

			coeficiente de desarrollo del lenguaje		Total
			disminuye	aumenta	
Tipo de ligadura	ligadura precoz	nº de niños	7	8	15
		porcentaje	46,7%	53,3%	
	ligadura tardia	nº de niños	4	11	15
		porcentaje	26,7%	73,3%	
Total		nº de niños	11	19	30

Tabla 51

Con respecto a los niños sometidos a ligadura precoz, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDG al correlacionarles con la Chi² de Pearson.(tabla 52) $X^2 = 0,67$ ($p < 0,796$).

Diferencias antes-después QDL

	Niños observados	Niños esperados
disminuye	7	7,5
aumenta	8	7,5
Total	15	

Tabla 52

Con respecto a los niños sometidos a ligadura tardía, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDG al correlacionarles con la Chi² de Pearson. (Tabla 53) $X^2 = 3,267$ ($p < 0,071$).

Diferencias antes-después de QDL

	Niños observados	Niños esperados
disminuyen	4	7,5
aumentan	11	7,5
Total	15	

Tabla 53

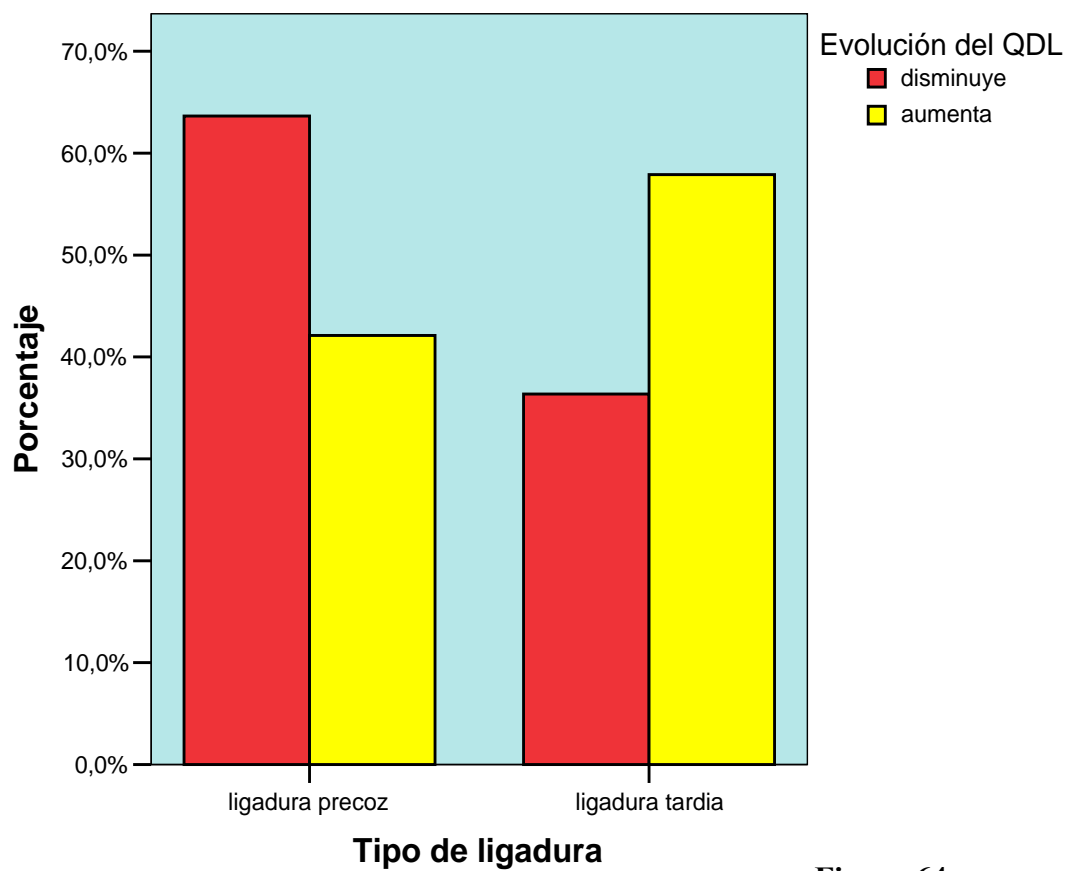


Figura 64

12.2.5.F. V. Coeficiente de desarrollo de la sociabilidad (QDS).

Se han obtenido los siguientes resultados en cuanto a la evolución del QDS de los niños (tabla 54):

- **Ligadura precoz:** el 60% empeoraron, mientras que el 40% mejoraron.
- **Ligadura tardía:** empeoraron el 33,3%, y el 66,7% mejoraron.

No se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre ambos grupos de estudio para el incremento y la disminución del coeficiente del desarrollo motor o postural de los niños al correlacionarles con la Chi² de Pearson (Fig.65). $X^2 = 2,143$ ($p < 0,143$).

TIPO DE LIGADURA DEL CORDÓN UMBILICAL, EVOLUCIÓN DEL QDS

			coeficiente de desarrollo de la sociabilidad		Total
			disminuye	aumenta	
Tipo de ligadura	ligadura precoz	nº de niños	9	6	15
		porcentaje	60,0%	40,0%	
	ligadura tardia	nº de niños	5	10	15
		porcentaje	33,3%	66,7%	
Total		nº de niños	14	16	30

Tabla 54

Con respecto a los niños sometidos a ligadura precoz, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDG al correlacionarles con la Chi² de Pearson.(tabla 55) $X^2=0,600$ ($p < 0,439$).

Diferencias antes-después del QDS

	Niños observados	Niños esperados
disminuyen	9	7,5
aumentan	6	7,5
Total	15	

Tabla 55

Con respecto a los niños sometidos a ligadura tardía, no se ha demostrado asociación estadísticamente significativa entre los niños que mejoran y los que empeoran su QDG al correlacionarles con la Chi² de Pearson. (Tabla 56) $X^2 = 1,667$ ($p < 0,197$).

Diferencias antes-después del QDS

	Niños observados	Niños esperados
disminuyen	5	7,5
aumentan	10	7,5
Total	15	

Tabla 56

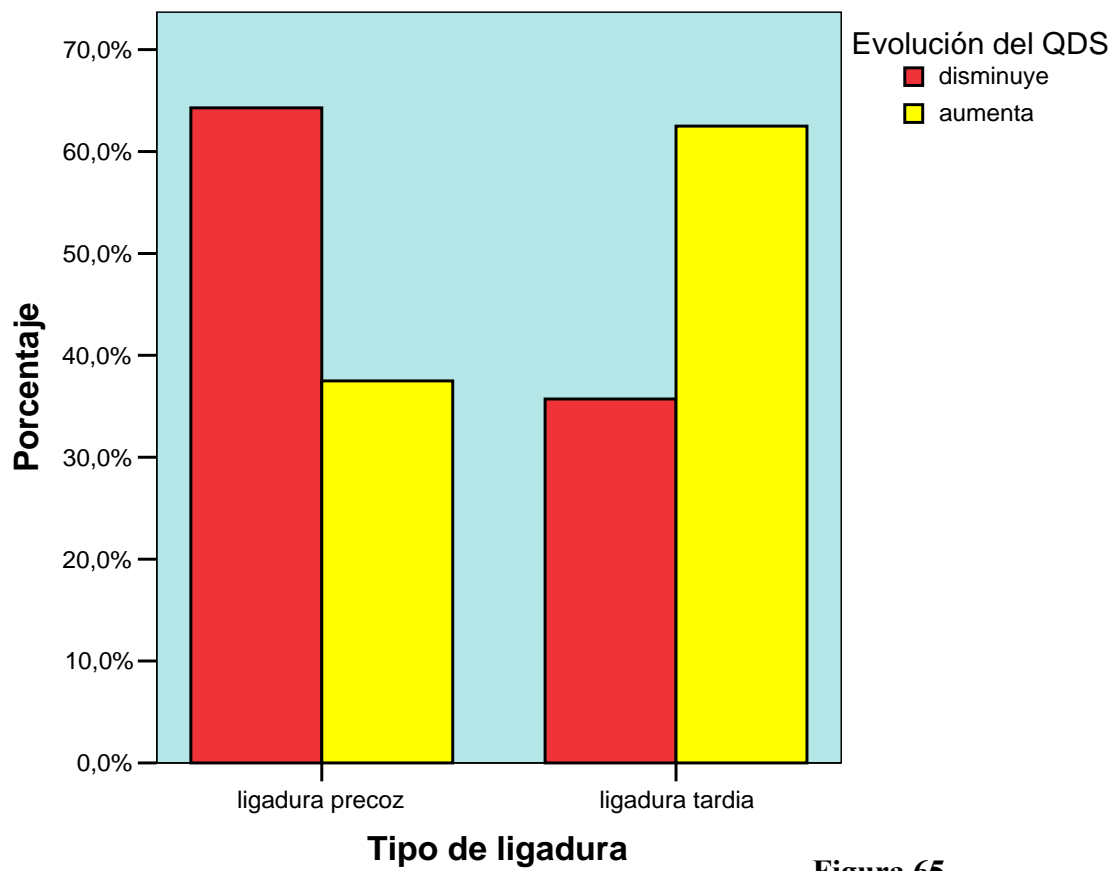


Figura 65

CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN

13. DISCUSIÓN.

En la literatura trabajos similares al nuestro, en el que se compara el estrés oxidativo en recién nacidos y el desarrollo psicomotor en la primera infancia de los niños que fueron sometidos a ligadura precoz frente a los sometidos a ligadura tardía.

Se ha comparado en multitud de estudios, las posibles diferencias hematológicas en recién nacidos sometidos a esos dos tipos de ligadura. Hemos encontrado estudios que investigan el daño oxidativo en niños con alguna patología o que han presentado algún problema grave neonatal; o trabajos sobre el desarrollo psicomotor en niños con alguna patología o con algún problema neonatal (CIR, preeclampsia, prematuridad, hijos de madres adictas a sustancias...), ahora bien, no se encuentran trabajos en los que se comparen solamente a niños sanos entre sí donde la única intervención diferencial es el momento de ligadura del cordón umbilical y se estudien posteriormente las influencias en el estrés oxidativo al que están expuestos estos recién nacidos, y su posible influencia en el desarrollo psicomotor.

Nuestra sospecha inicial era que la ligadura tardía del cordón umbilical podría ser un mecanismo protector frente al estrés oxidativo y que a su vez, esto podría tener repercusiones en el desarrollo psicomotor en la primera infancia. Para llegar a este punto partíamos de trabajos anteriores de nuestro grupo de investigación, publicados en la Tesis Doctoral de la Doctora Catalina de Paco Matallana (Universidad de Granada 2006). En ella se analizó la concentración de lípidos en cordón umbilical comparando un grupo de recién nacidos sometidos a ligadura precoz frente a los sometidos a ligadura tardía. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambas determinaciones siendo mayores en el grupo de ligadura precoz. A su vez, en algunos trabajos⁵⁵⁶ se ha demostrado que las situaciones de estrés fetal se asocian a mayor concentración de lípidos en cordón umbilical, lo que vendría a significar que existe mayor estrés y lipidemia en los recién nacidos sometidos a ligadura precoz. En esta misma línea de investigación, en nuestro trabajo demostramos menor concentración de lípidos en cordón umbilical en los recién nacidos sometidos a ligadura tardía del cordón umbilical.

Al investigar estrés oxidativo, nos centramos en la actividad enzimática de Catalasa y de Glutación Peroxidasa, cuya función es la detoxificación de los radicales libres.

En cuanto a la **enzima Catalasa**, al comparar su actividad en las muestras de ligadura precoz y de ligadura tardía del cordón umbilical, se encontró que era mayor en el grupo de ligadura tardía, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. Ello quiere decir que el grupo de ligadura tardía tiene más capacidad para eliminar el estrés oxidativo que el grupo de ligadura precoz.

Al investigar la actividad enzimática en arteria y en vena umbilical, encontramos, tanto en el grupo de ligadura precoz como en el de ligadura tardía, que la actividad enzimática de la Catalasa es mayor en la vena que en la arteria umbilical, siendo significativas estas diferencias. En cuanto a la posible correlación entre ambos vasos, en el grupo de ligadura precoz no había correlación entre arteria y vena, mientras que en el

grupo de ligadura tardía se encontró una correlación positiva y significativa entre ambos vasos.

Por lo tanto, podríamos afirmar que la ligadura tardía del cordón umbilical supone una protección antioxidante al recién nacido que recibe un aporte extra de enzima antioxidante activa procedente de la madre. Además, la existencia de una correlación significativa y positiva en la actividad Catalasa en arteria y en vena umbilicales en el grupo de ligadura tardía implica una relación directa entre el aporte materno de enzima antioxidante al feto y la cantidad de enzima activa que éste revierte a la circulación placentaria.

Por otra parte, en el grupo de ligadura precoz no se encuentra esta correlación entre arteria y vena, lo que nos llevó a analizar estos resultados más a fondo, al observar que la media de actividad de la enzima Catalasa en vena umbilical era mayor a la de arteria umbilical, investigamos esas diferencias, que llegaron a la significación estadística, esto es, en los recién nacidos sometidos a ligadura precoz, la cantidad de enzima antioxidante activa que reciben es mucho mayor a la que revierten a la circulación placentaria. También podría tratarse de que produce la enzima o bien que no la utiliza, probablemente porque no le da tiempo a usarla, mientras que en la ligadura tardía sí la emplea, no siendo significativa las diferencias entre ambos espacios vasculares.

El hecho de que no se mantengan las diferencias significativas en arteria umbilical cuando la actividad enzimática de la Catalasa se mide en U/mg, sería por el “juego de los números” y, obviamente se resolvería aumentando el tamaño muestral, ya que si lo es cuando la medida se efectúa en otra unidad.

En cuanto a la actividad de la **enzima Glutación Peroxidasa** tanto en vena como en arteria umbilical, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar entre sí los grupos de ligadura precoz y ligadura tardía de cordón umbilical.

Tanto en ligadura precoz como en tardía no se ha demostrado correlación en la actividad de la Glutación Peroxidasa entre arteria y vena umbilicales.

En cuanto a la actividad de la enzima Glutación Peroxidasa en la circulación materna a lo largo del curso del parto, al comparar los dos periodos del parto (inicial y final) no hemos encontrado correlación entre el grupo de estudio formado por ligadura precoz y el grupo de ligadura tardía. Lo cual es lógico si pensamos que la toma de la muestra materna tiene lugar antes de realizar la intervención del “clampaje” del cordón umbilical.

En la ligadura precoz del cordón umbilical, existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de Glutación Peroxidasa que hemos hallado, en primer lugar, entre la madre al final del periodo expulsivo con la vena umbilical, ahora bien no hay correlación entre los valores obtenidos de ambos espacios vasculares. En segundo lugar, en la arteria umbilical, también la concentración de enzima es estadísticamente diferente con la encontrada en la madre durante el periodo expulsivo y la correlación entre ambas no es significativa. En tercer lugar, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de enzima Glutación

Peroxidasa en arteria y en vena umbilicales, así como de demostró la inexistencia de correlación entre ambas.

En la ligadura tardía del cordón umbilical, existen diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de Glutación Peroxidasa que hemos hallado, en primer lugar, entre la madre al final del periodo expulsivo con la vena umbilical, ahora bien no hay correlación entre los valores obtenidos de ambos espacios vasculares. En segundo lugar, en la arteria umbilical, también la concentración de enzima es estadísticamente diferente con la encontrada en la madre durante el periodo expulsivo y la correlación entre ambas no es significativa. En tercer lugar, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la concentración de enzima Glutación Peroxidasa en arteria y en vena umbilicales, así como de demostró la inexistencia de correlación entre ambas.

A pesar de que en la economía de la madre existe aproximadamente el doble de actividad enzimática de Glutación Peroxidasa que en el feto en los dos tipos de ligadura, tanto en arteria como en vena, y al no existir correlación entre estos compartimentos, podría pensarse que el origen de dicha enzima en la circulación fetal no es materno.

Puesto que no se han encontrado diferencias entre ligadura precoz y tardía del cordón umbilical en cuanto a la actividad de la Glutación Peroxidasa, podemos deducir que el tipo de ligadura del cordón umbilical no ejerce influencia alguna sobre lo que representa la enzima Glutación peroxidasa en el estrés oxidativo.

La generación de radicales libres del oxígeno es propio de la vida aeróbica, sin embargo, los tejidos cuentan con un sistema de detoxificación que generalmente es suficiente para prevenir el daño. Por su parte, el feto tiene un sistema extraordinariamente sensible al estrés oxidativo, es una estructura sometida a una replicación y diferenciación celular muy rápidas con unas importantes demandas metabólicas y energéticas. Estos procesos generan flujo de electrones que producen especies reactivas de oxígeno. Además, los tejidos fetales contienen niveles de hierro y cobre mayores a los del adulto, siendo sus sistemas de defensa, enzimáticos o no, menos potentes que los del adulto¹⁹⁷.

A medida que íbamos desarrollando nuestro trabajo, perdíamos tamaño muestral, como en un principio se intuía que ocurriría por la falta de adherencia de los padres al proyecto. Pero observamos que los padres de las niñas se mantenían en el estudio más tiempo, mientras que los de los varones, en un alto porcentaje abandonaban antes de que éste concluyera; por eso comparamos la homogeneidad de las muestras hasta en tres etapas del proyecto en varios aspectos, entre ellos el sexo de los niños. Lo comparamos por primera vez al finalizar el periodo de recogida de casos, la segunda ocasión fue en la primera etapa de investigación del desarrollo psicomotor, y por último volvió a comprobarse en la última etapa de estudio de **Desarrollo Psicomotor**. En los dos grupos de estudio hay más niñas que niños, pero no hay diferencias entre ambos grupos cuando los comparamos estadísticamente en todas las etapas.

Lo que sí observamos fue una menor variabilidad entre las niñas, esto es, en general, en casi todos los aspectos del desarrollo psicomotor analizados, el error estándar de la media es mucho menor entre las mujeres que entre los varones.

Al analizar los resultados del desarrollo psicomotor, comparando ambos tipos de ligadura del cordón umbilical, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el Coeficiente de Desarrollo Global (QDG) a favor del grupo de ligadura tardía, y esto ocurre a expensas de los dominios de lenguaje y de relaciones sociales.

Al observar las diferencias tan importantes apreciadas anteriormente en cuanto a la adherencia de los padres al estudio, nos propusimos estudiar el QDG por sexos, sin tener en cuenta el tipo de ligadura al que fueron sometidos. Encontramos que entre las mujeres se apreció menor variabilidad (EEM menor) que entre los varones.

Si nos centramos sólo en el grupo de ligadura precoz, y buscamos diferencias en el QDG según el sexo del recién nacido, ocurre igual que en el grupo general, podemos apreciar de nuevo que, dentro de la muestra, entre las niñas existe menor variabilidad que en los niños.

Y en cuanto al grupo de ligadura tardía, al repetir este mismo análisis, de nuevo encontramos, como dato curioso, que la variabilidad entre los varones es mucho mayor que entre las mujeres (el EEM es mayor).

Si nos centramos en este dato, tampoco podemos olvidar que la variabilidad de una muestra disminuye al aumentar el tamaño muestral, y que el número de niñas (44) es mayor que el de niños (28), no obstante, realizamos el coeficiente de variación en estos casos, para así poder atribuir las diferencias en la variabilidad al tamaño muestral o no. Finalmente se confirmó nuestra hipótesis de que la variabilidad es mayor en los niños que en las niñas.

Al investigar el Coeficiente de Desarrollo Psicomotor desglosándolo en los diferentes dominios que lo componen, pudimos observar como en sus dominios, Motor o Postural (QDP) y de Coordinación Visomotora (QDC), no hay diferencias entre ambos grupos de ligadura.

En cuanto al Coeficiente de Desarrollo en el dominio del Lenguaje (QDL), y en el de la Sociabilidad (QDS), se han encontrado diferencias estadísticamente significativas según el tipo de ligadura, a favor de la ligadura tardía.

Resumiendo las ideas anteriores, en nuestro estudio de QD, hemos encontrado en algunos de los dominios, diferencias estadísticamente significativas entre ambos tipos de ligadura, que siempre estaban a favor de la ligadura tardía. Esto nos sugiere que exista la posibilidad de que a través de la ligadura tardía del cordón umbilical el recién nacido posea un QD mejor, dentro de la normalidad, partiendo de la base de que todos los niños de nuestro estudio eran sanos y la muestra estudiada se demostró que era homogénea.

Además se investigó la evolución del Desarrollo Psicomotor, como explicábamos anteriormente, de nuevo seguíamos perdiendo muestra a medida que pasaba el tiempo y volvíamos a solicitar a los padres que acudieran con su hijo a la consulta, pero como se puede observar en el apartado de resultados (ver apartado 12.2.5), a pesar de ello, la muestra seguía siendo homogénea.

También se investigó la evolución del QDG por sexos, y no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre mujeres y varones, aunque de nuevo observamos lo comentado anteriormente, la media de evolución fue mayor entre las mujeres, y también fue mayor la variabilidad de los resultados entre los varones, que de nuevo se confirmó con el coeficiente de variación.

Al desglosar la evolución del Coeficiente de Desarrollo Psicomotor según los diferentes dominios que lo componen, en el dominio de Coordinación Visomotora, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, y las medias de evolución fueron similares entre ambos grupos. Por el contrario, en cuanto a los dominios de Lenguaje, y de Sociabilidad, las medias de evolución del desarrollo fueron mayores en el grupo de ligadura tardía, aunque tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas, en el caso del dominio de la Sociabilidad, casi alcanza la significación ($p < 0.056$). Sólo se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el dominio Motor o Postural, donde se demostró que fue mayor la evolución de este aspecto del Desarrollo en el grupo de niños sometidos a ligadura tardía en el momento del nacimiento.

Aprovechando la adherencia de algunos padres a nuestro estudio, investigamos la evolución del QD entre los diecisiete y los veinticuatro meses de edad de sus hijos. Encontramos diferencias a favor del grupo de ligadura tardía, en la evolución de QD entre ambos tipos de ligadura para el dominio motor o postura (QDP). Luego podría ser que demorar el momento del “clampaje” del cordón umbilical ayude al recién nacido a evolucionar más rápido en las habilidades motoras a largo plazo.

Además se ha investigado cuantos niños en cada grupo mejoraban o empeoraban su QD a lo largo del tiempo considerando sólo el aumento o la disminución de su valor, y despreciando el valor absoluto, en ningún momento se obtuvieron diferencias significativas. No obstante encontramos porcentajes muy diferentes entre los que mejoraban y los que empeoraban en cada grupo, lo que nos llevó a investigar estas diferencias, que fueron significativas en los casos de QDG y QDP, luego, los niños sometidos a ligadura tardía tienen una evolución del desarrollo psicomotor superior a los sometidos a ligadura precoz del cordón umbilical, a expensas del dominio motor o postural.

Estos resultados hablan a favor de la realización de ligadura tardía en los fetos a término provenientes de partos normales y no tendrían que sorprendernos dado que ningún mamífero realiza ligadura del cordón umbilical y el ser humano, hasta hace relativamente poco tiempo, ha estado comportándose de igual modo en lo que a este asunto se refiere. Ha sido con la asistencia hospitalaria de los partos, con lo que se ha introducido la ligadura precoz del cordón umbilical.

CAPÍTULO VII

CONCLUSIONES

14. CONCLUSIONES.

- 1- La actividad de la enzima Catalasa es mayor en el grupo de ligadura tardía que en el de ligadura precoz del cordón umbilical.
- 2- En ambos grupos de ligadura del cordón umbilical, la media de actividad de la enzima Catalasa es mayor en vena que en arteria.
- 3- En ambos tipos de ligadura del cordón umbilical no se ha encontrado correlación entre las concentraciones de enzima Catalasa de vena y de arteria umbilicales.
- 4- No se han demostrado diferencias significativas en la actividad de la enzima Glutación Peroxidasa al comparar ligadura precoz frente a ligadura tardía.
- 5- No se ha demostrado relación entre la actividad de la enzima Glutación Peroxidasa en la circulación materna y en la circulación fetal.
- 6- En ambos tipos de ligadura, la actividad de la enzima Glutación Peroxidasa es mayor en la circulación fetal que en la materna.
- 7- En ambos tipos de ligadura del cordón umbilical, no hay diferencias significativas en la actividad de enzima Glutación Peroxidasa en arteria frente a vena umbilical.
- 8- El Coeficiente de Desarrollo Global es mayor en el grupo de ligadura tardía que en el de ligadura precoz, a expensas de sus dominios de Lenguaje y de Sociabilidad.
- 9- Comparando entre ambos sexos e independientemente del tipo de ligadura, no hay diferencias estadísticamente significativas en cuanto al Coeficiente de Desarrollo Global, ni en cuanto a la evolución del mismo.
- 10- La evolución del Coeficiente de Desarrollo Motor o Postural es mayor en el grupo de ligadura tardía que en el de ligadura precoz. En cuanto a la evolución de los demás dominios del Desarrollo Psicomotor, las diferencias no hemos podido demostrar diferencias estadísticamente significativas.

A la luz de los resultados obtenidos en esta experiencia y considerando tanto las aportaciones previas de nuestro grupo, como las últimas recogidas en la literatura más reciente, el desarrollo psicomotor evolutivo en el niño probablemente sea la faceta más trascendente para el futuro adulto y, a su vez, la más desconocida y que plantea más incógnitas, lo que nos induce a concluir que este tipo de trabajos deben fomentarse en las unidades, como la nuestra, en las que se atienden tanto a neonatos normales como con patología muy variada.

Durante la etapa perinatal, la patología que se ha relacionado con los fenómenos de estrés oxidativo; retinopatía, broncodisplasia pulmonar, leucomalacia periventricular, etc... se ha visto incrementada con los procedimientos y terapias que se vienen empleando en nuestras unidades neonatales. En este orden de ideas podemos afirmar que la ligadura tardía del cordón umbilical podría considerarse como un factor protector frente a los problemas anteriormente citados. Afirmación que se basa en los resultados obtenidos al alcanzar elementos claves que participan en el equilibrio oxidativo (catalasa, glutatión peroxidasa).

Utilizando el Test de Brunet-Lèzine Revisado las conclusiones anteriormente citadas adquieren mayor relevancia al corroborarse cómo el Coeficiente de Desarrollo Global es mayor en el grupo de ligadura tardía que en el de ligadura precoz, a expensas de sus dominios de Lenguaje y de Sociabilidad y la evolución del Coeficiente de Desarrollo Motor o Postural es mayor en el grupo de ligadura tardía que en el de ligadura precoz.

En definitiva, tenemos argumentos suficientes que nos permiten recomendar la ligadura tardía del cordón umbilical como conclusión más importante de este proyecto.

CAPÍTULO VIII

BIBLIOGRAFÍA

15. BIBLIOGRAFIA

1. Recommendation for a selected method for the measurement of plasma viscosity. International Committee for Standardization in Haematology. *J Clin Pathol* 1984; 37(10):1147-52.
2. High-frequency oscillatory ventilation compared with conventional intermittent mechanical ventilation in the treatment of respiratory failure in preterm infants: neurodevelopmental status at 16 to 24 months of postterm age. The HIFI Study Group. *J Pediatr* 1990; 117(6):939-46.
3. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105:121-6.
4. Agostoni A, Gerli GC, Beretta L, Bianchi M, Vignoli M, Bombelli F. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in maternal and cord blood erythrocytes. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980; 18(11):771-3.
5. Agostoni C, Trojan S, Bellu R, Riva E, Bruzzese MG, Giovannini M. Developmental quotient at 24 months and fatty acid composition of diet in early infancy: a follow up study. *Arch Dis Child* 1997; 76(5):421-4.
6. Agostoni C, Trojan S, Bellu R, Riva E, Giovannini M. Neurodevelopmental quotient of healthy term infants at 4 months and feeding practice: the role of long-chain polyunsaturated fatty acids. *Pediatr Res* 1995; 38(2):262-6.
7. Alvarez M, Carvajal F, Renon A *et al.* Differential effect of fetal, neonatal and treatment variables on neurodevelopment in infants with congenital hypothyroidism. *Horm Res* 2004; 61(1):17-20.
8. Ambalavanan N, Nelson KG, Alexander G, Johnson SE, Biasini F, Carlo WA. Prediction of neurologic morbidity in extremely low birth weight infants. *J Perinatol* 2000; 20(8 Pt 1):496-503.
9. Amusquivar E, Ruperez FJ, Barbas C, Herrera E. Low arachidonic acid rather than alpha-tocopherol is responsible for the delayed postnatal development in offspring of rats fed fish oil instead of olive oil during pregnancy and lactation. *J Nutr* 2000; 130(11):2855-65.
10. Ancora G, Lanari M, Lazzarotto T *et al.* Cranial ultrasound scanning and prediction of outcome in newborns with congenital cytomegalovirus infection. *J Pediatr* 2007; 150(2):157-61.
11. Antoine C, Young BK. Fetal lactic acidosis with epidural anesthesia. *Am J Obstet Gynecol* 1982; 142(1):55-9.
12. Antolin I, Rodriguez C, Sainz RM *et al.* Neurohormone melatonin prevents cell damage: effect on gene expression for antioxidant enzymes. *FASEB J* 1996; 10(8):882-90.
13. 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(6):615-25.

14. Armstead WM. Influence of brain injury on vasopressin-induced pial artery vasodilation: role of superoxide anion. *Am J Physiol* 1996; 270(4 Pt 2):H1272-8.
15. Arnaud E, Renier D, Marchac D, Brunet L, Pierre-Kahn A. [Mental prognosis in scaphocephaly]. *Arch Pediatr* 1996; 3(1):16-21.
16. Askie LM, Henderson-Smart DJ, Irwig L, Simpson JM. Oxygen-saturation targets and outcomes in extremely preterm infants. *N Engl J Med* 2003; 349(10):959-67.
17. Assali NS. Some aspects of fetal life in utero and the changes at birth. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 97(3):324-31.
18. ASSALI NS, MORRIS JA. CIRCULATORY AND METABOLIC ADJUSTMENTS OF THE FETUS AT BIRTH. *Biol Neonat* 1964; 7:141-59.
19. Astbury J, Orgill A, Bajuk B. Relationship between two-year behaviour and neurodevelopmental outcome at five years of very low-birthweight survivors. *Dev Med Child Neurol* 1987; 29(3):370-9.
20. Austgulen R. [Recent knowledge on mechanisms underlying development of pre-eclampsia]. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2004; 124(1):21-4.
21. Autor AP, Frank L, Roberts RJ. Developmental characteristics of pulmonary superoxide dismutase: relationship to idiopathic respiratory distress syndrome. *Pediatr Res* 1976; 10(3):154-8.
22. AVERY ME, FRANK NR, GRIBETZ I. The inflationary force produced by pulmonary vascular distention in excised lungs; the possible relation of this force to that needed to inflate the lungs at birth. *J Clin Invest* 1959; 38(3):456-62.
23. Awasthi YC, Sharma R, Singhal SS. Human glutathione S-transferases. *Int J Biochem* 1994; 26(3):295-308.
24. Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (first of two parts). *N Engl J Med* 1978; 298(12):659-68.
25. Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (second of two parts). *N Engl J Med* 1978; 298(13):721-5.
26. Bada HS, Korones SB, Pourcyrous M *et al.* Asymptomatic syndrome of polycythemic hyperviscosity: effect of partial plasma exchange transfusion. *J Pediatr* 1992; 120(4 Pt 1):579-85.
27. Ballabriga A, Martinez M. A chemical study on the development of the human forebrain and cerebellum during the brain 'growth spurt' period. II. Phosphoglyceride fatty acids. *Brain Res* 1978; 159(2):363-70.
28. Ballard RA, Truog WE, Cnaan A *et al.* Inhaled nitric oxide in preterm infants undergoing mechanical ventilation. *N Engl J Med* 2006; 355(4):343-53. Notes: CORPORATE NAME: NO CLD Study Group
29. Barchowsky A, Williams ME, Benz CC, Chepenik KP. Oxidant-sensitive protein

phosphorylation in endothelial cells. *Free Radic Biol Med* 1994; 16(6):771-7.

30. Barlow-Walden LR, Reiter RJ, Abe M *et al.* Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochem Int* 1995; 26(5):497-502.

31. Batra S, Kumar R, Seema, Kapoor AK, Ray G. Alterations in antioxidant status during neonatal sepsis. *Ann Trop Paediatr* 2000; 20(1):27-33.

32. Battino M, Fato R, Parenti-Castelli G, Lenaz G. Coenzyme Q can control the efficiency of oxidative phosphorylation. *Int J Tissue React* 1990; 12(3):137-44.

33. Bauer C, Ludwig M, Ludwig I, Bartels H. Factors governing the oxygen affinity of human adult and foetal blood. *Respir Physiol* 1969; 7(3):271-7.

34. Baydas G, Karatas F, Gursu MF *et al.* Antioxidant vitamin levels in term and preterm infants and their relation to maternal vitamin status. *Arch Med Res* 2002; 33(3):276-80.

35. Bearer CF, Lee S, Salvator AE *et al.* Ethyl linoleate in meconium: a biomarker for prenatal ethanol exposure. *Alcohol Clin Exp Res* 1999; 23(3):487-93.

36. Beckman JS. The double-edged role of nitric oxide in brain function and superoxide-mediated injury. *J Dev Physiol* 1991; 15(1):53-9.

37. Beckman JS, Crow JP. Pathological implications of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite formation. *Biochem Soc Trans* 1993; 21(2):330-4.

38. Beeram MR, Wilson DP. Hypothyroxinemia of prematurity: rite of passage or therapeutic necessity? *Tex Med* 2000; 96(11):60-3.

39. Beke A, Csabay L, Rigo J Jr, Harmath A, Papp Z. Follow-up studies of newborn-babies with congenital ventriculomegaly. *J Perinat Med* 1999; 27(6):495-505.

40. Bellinger DC, Wypij D, duDuplessis AJ *et al.* Neurodevelopmental status at eight years in children with dextro-transposition of the great arteries: the Boston Circulatory Arrest Trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003; 126(5):1385-96.

41. Benaron DA, Bowen FW. Variation of initial serum bilirubin rise in newborn infants with type of illness. *Lancet* 1991; 338(8759):78-81.

42. Benedetto C, Massobrio M, Bertini E, Abbondanza M, Enrieu N, Tetta C. Reduced serum inhibition of platelet-activating factor activity in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 160(1):100-4.

43. Bennett FC, Robinson NM, Sells CJ. Hyaline membrane disease, birth weight, and gestational age. Effects on development in the first two years. *Am J Dis Child* 1982; 136(10):888-91.

44. Berger HM, Lindeman JH, van Zoeren-Grobbe D, Houdkamp E, Schrijver J, Kanhai HH. Iron overload, free radical damage, and rhesus haemolytic disease. *Lancet* 1990; 335(8695):933-6.

45. Beutler E. Nutritional and metabolic aspects of glutathione. *Annu Rev Nutr* 1989; 9:287-302.
46. Bhutani VK, Abbasi S. Long-term pulmonary consequences in survivors with bronchopulmonary dysplasia. *Clin Perinatol* 1992; 19(3):649-71.
47. Bielski BH, Arudi RL, Sutherland MW. A study of the reactivity of HO₂/O₂- with unsaturated fatty acids. *J Biol Chem* 1983; 258(8):4759-61.
48. Billah MM, Di Renzo GC, Ban C *et al*. Platelet-activating factor metabolism in human amnion and the responses of this tissue to extracellular platelet-activating factor. *Prostaglandins* 1985; 30(5):841-50.
49. Bilodeau JF, Hubel CA. Current concepts in the use of antioxidants for the treatment of preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Can* 2003; 25(9):742-50.
50. Biri A, Onan A, Devrim E, Babacan F, Kavutcu M, Durak I. Oxidant status in maternal and cord plasma and placental tissue in gestational diabetes. *Placenta* 2006; 27(2-3):327-32.
51. Bis-Gluchowska M, Marciniak B, Szpringer-Bogun E, Rola R, Leszczynska-Gorzela B, Oleszczuk J. [Determination of antioxidative-peroxidative balance in the cord blood of newborns delivered to mothers with diabetes type G1]. *Ginekol Pol* 2001; 72(12A):1255-8.
52. Bizzarro M, Gross I. Inhaled nitric oxide for the postoperative management of pulmonary hypertension in infants and children with congenital heart disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; (4):CD005055.
53. Black VD. Neonatal hyperviscosity syndromes. *Curr Probl Pediatr* 1987; 17(2):73-130.
54. Bode H, Das-Kundu S. [Cerebral Doppler measurements in risk newborn infants do not have a prognostic value]. *Monatsschr Kinderheilkd* 1992; 140(4):237-43.
55. Bonitz SG, Homison G, Thalenfeld BE, Tzagoloff A, Nobrega FG. Assembly of the mitochondrial membrane system. Processing of the apocytochrome b precursor RNAs in *Saccharomyces cerevisiae* D273-10B. *J Biol Chem* 1982; 257(11):6268-74.
56. Borok Z, Buhl R, Grimes GJ *et al*. Effect of glutathione aerosol on oxidant-antioxidant imbalance in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet* 1991; 338(8761):215-6.
57. Bossi E, Koerner F. Retinopathy of prematurity. *Intensive Care Med* 1995; 21(3):241-6.
58. BOUND JP, HARVEY PW, BAGSHAW HB. Prevention of pulmonary syndrome of the newborn. *Lancet* 1962; 1:1200-3.
59. Boveris A, Cadenas E. Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin insensitive respiration. *FEBS Lett* 1975; 54(3):311-4.
60. Boveris A, Chance B. The mitochondrial generation of hydrogen peroxide.

General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J* 1973; 134(3):707-16.

61. Bracci R, Buonocore G, Talluri B, Berni S. Neonatal hyperbilirubinemia. Evidence for a role of the erythrocyte enzyme activities involved in the detoxification of oxygen radicals. *Acta Paediatr Scand* 1988; 77(3):349-56.

62. Brand PL, Molenaar NL, Kaaijk C, Wierenga WS. Neurodevelopmental outcome of hypoglycaemia in healthy, large for gestational age, term newborns. *Arch Dis Child* 2005; 90(1):78-81.

63. Bratlid D. How bilirubin gets into the brain. *Clin Perinatol* 1990; 17(2):449-65.

64. Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem* 1994; 63:175-95.

65. Breimer LH. Molecular mechanisms of oxygen radical carcinogenesis and mutagenesis: the role of DNA base damage. *Mol Carcinog* 1990; 3(4):188-97.

66. Briet JM, van Wassenae AG, van Baar A, Dekker FW, Kok JH. Evaluation of the effect of thyroxine supplementation on behavioural outcome in very preterm infants. *Dev Med Child Neurol* 1999; 41(2):87-93.

67. Brooksbank BW, Martinez M, Balazs R. Composition and synthesis of polyunsaturated fatty acyl groups in the embryonic brain of the trisomy-16 mouse. *Int J Dev Neurosci* 1988; 6(2):193-201.

68. Brown GC. Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and cell functions by inhibiting cytochrome oxidase. *FEBS Lett* 1995; 369(2-3):136-9.

69. Bruck I, Tahan TT, Cruz CR *et al.* Developmental milestones of vertically HIV infected and seroreverters children: follow up of 83 children. *Arq Neuropsiquiatr* 2001; 59(3-B):691-5.

70. Brun JF, Boulot P, Fons C, Hedon MN, Viala JL, Orsetti A. [Hemorrhological parameters during normal labor and uterine contraction]. *Rev Fr Gynecol Obstet* 1991; 86(2 Pt 2):148-53.

71. Buhimschi C, Weiner CP. Endotoxemia causing fetal bradycardia during urosepsis. *Obstet Gynecol* 2001; 97(5 Pt 2):818-20.

72. Buhimschi CS, Gokdeniz R, Saade GR, Buhimschi IA, Garfield RE. The effect of chronic nitric oxide synthase inhibition on blood pressure and heart rate in unrestrained pregnant rats as recorded by radiotelemetry. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181(1):159-64.

73. Buhimschi I, Yallampalli C, Dong YL, Garfield RE. Involvement of a nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in control of human uterine contractility during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172(5):1577-84.

74. Buhimschi IA, Kramer WB, Buhimschi CS, Thompson LP, Weiner CP. Reduction-oxidation (redox) state regulation of matrix metalloproteinase activity in human fetal membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182(2):458-64.

75. Bulgan Kilicdag E, Ay G, Celik A, Ustundag B, Ozercan I, Simsek M. Oxidant-antioxidant system changes relative to placental-umbilical pathology in patients with preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2005; 24(2):147-57.
76. Buonocore G, Perrone S, Gioia D *et al.* Nucleated red blood cell count at birth as an index of perinatal brain damage. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181(6):1500-5.
77. Buonocore G, Perrone S, Longini M *et al.* Non protein bound iron as early predictive marker of neonatal brain damage. *Brain* 2003; 126(Pt 5):1224-30.
78. Buonocore G, Perrone S, Longini M *et al.* Oxidative stress in preterm neonates at birth and on the seventh day of life. *Pediatr Res* 2002; 52(1):46-9.
79. Burguet A, Monnet E, Roth P *et al.* [Neurodevelopmental outcome of premature infants born at less than 33 weeks of gestational age and not cerebral palsy at the age of 5 years]. *Arch Pediatr* 2000; 7(4):357-68.
80. BURNARD ED, JAMES LS. Atrial pressures and cardiac size in the newborn infant. Relationships with degree of birth asphyxia and size of placental transfusion. *J Pediatr* 1963; 62:815-26.
81. Busconi L, Michel T. Endothelial nitric oxide synthase. N-terminal myristoylation determines subcellular localization. *J Biol Chem* 1993; 268(12):8410-3.
82. Bustamante J, Bersier G, Romero M, Badin RA, Boveris A. Nitric oxide production and mitochondrial dysfunction during rat thymocyte apoptosis. *Arch Biochem Biophys* 2000; 376(2):239-47.
83. Caddell JL. Hypothesis: the possible role of magnesium and copper deficiency in retinopathy of prematurity. *Magnes Res* 1995; 8(3):261-70.
84. Cadenas E, Boveris A, Ragan CI, Stoppani AO. Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef-heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 1977; 180(2):248-57.
85. Calder AA, Greer IA. Pharmacological modulation of cervical compliance in the first and second trimesters of pregnancy. *Semin Perinatol* 1991; 15(2):162-72. Notes: GENERAL NOTE: PIP: TJ: SEMINARS IN PERINATOLOGY.
86. Cambonie G, Comte B, Yzydorczyk C *et al.* ANTENATAL ANTIOXIDANT PREVENTS ADULT HYPERTENSION, VASCULAR DYSFUNCTION AND MICROVASCULAR RAREFACTION ASSOCIATED WITH IN UTERO EXPOSURE TO A LOW PROTEIN DIET. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006.
87. Capasso L, Raimondi F, Capasso A, Crivaro V, Capasso R, Paludetto R. Early cord clamping protects at-risk neonates from polycythemia. *Biol Neonate* 2003; 83(3):197-200.
88. Caravale B, Allemand F, Libenson MH. Factors predictive of seizures and neurologic outcome in perinatal depression. *Pediatr Neurol* 2003; 29(1):18-25.

89. Carlson SE. Long-chain polyunsaturated fatty acids and development of human infants. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88(430):72-7.
90. Cassady G. Plasma volume studies in low birth weight infants. *Pediatrics* 1966; 38(6):1020-7.
91. Cassutto BH, Misra HP, Pfeiffer CJ. Intestinal post-ischemic reperfusion injury: studies with neonatal necrotizing enterocolitis. *Acta Physiol Hung* 1989; 73(2-3):363-9.
92. Castro L, Rodriguez M, Radi R. Aconitase is readily inactivated by peroxynitrite, but not by its precursor, nitric oxide. *J Biol Chem* 1994; 269(47):29409-15.
93. Ceriani Cernadas JM, Carroli G, Pellegrini L *et al.* The effect of timing of cord clamping on neonatal venous hematocrit values and clinical outcome at term: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2006; 117(4):e779-86.
94. Challis JR, Kendall JZ, Robinson JS, Thorburn GD. The regulation of corticosteroids during late pregnancy and their role in parturition. *Biol Reprod* 1977; 16(1):57-69.
95. Chamy VM, Lepe J, Catalan A, Retamal D, Escobar JA, Madrid EM. Oxidative stress is closely related to clinical severity of pre-eclampsia. *Biol Res* 2006; 39(2):229-36.
96. Chance B, Oshino N. Analysis of the catalase--hydrogen peroxide intermediate in coupled oxidations. *Biochem J* 1973; 131(3):564-7.
97. Chance B, Saronio C, Leigh JS Jr. Compound C2, a product of the reaction of oxygen and the mixed-valence state of cytochrome oxidase. Optical evidence for a type-I copper. *Biochem J* 1979; 177(3):931-41.
98. Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59(3):527-605.
99. Chappell LC, Seed PT, Briley A *et al.* A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187(1):127-36.
100. Chappell LC, Seed PT, Kelly FJ *et al.* Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 187(3):777-84.
101. Chaudhari L, Tandon OP, Vaney N, Agarwal N. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in gestational diabetics. *Indian J Physiol Pharmacol* 2003; 47(4):441-6.
102. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49(3):481-93.
103. Chelchowska M, Laskowska-Klita T, Kubik P, Leibschang J. [The effect of vitamin-mineral supplementation on the level of MDA and activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in blood of matched maternal-cord pairs]. *Przegl Lek* 2004; 61(7):760-3.

104. Chelchowska M, Laskowska-Klita T, Leibschang J. [The effect of tobacco smoking during pregnancy on concentration of vitamin E in blood of mothers and their newborns in umbilical cord blood]. *Ginekol Pol* 2006; 77(4):263-8.
105. Chen X, Scholl TO. Oxidative stress: changes in pregnancy and with gestational diabetes mellitus. *Curr Diab Rep* 2005; 5(4):282-8.
106. Cheung PY, Etches PC, Weardon M, Reynolds A, Finan NN, Robertson CM. Use of plasma lactate to predict early mortality and adverse outcome after neonatal extracorporeal membrane oxygenation: a prospective cohort in early childhood. *Crit Care Med* 2002; 30(9):2135-9.
107. Chien S, Usami S, Dellenback RJ, Gregersen MI. Shear-dependent deformation of erythrocytes in rheology of human blood. *Am J Physiol* 1970; 219(1):136-42.
108. Chugh K. Neurodevelopmental outcome with early indomethacin. *Indian Pediatr* 1997; 34(4):367-8.
109. Clapp JF 3rd. Morphometric and neurodevelopmental outcome at age five years of the offspring of women who continued to exercise regularly throughout pregnancy. *J Pediatr* 1996; 129(6):856-63.
110. Clapp JF 3rd, Simonian S, Lopez B, Appleby-Wineberg S, Harcar-Sevcik R. The one-year morphometric and neurodevelopmental outcome of the offspring of women who continued to exercise regularly throughout pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 178(3):594-9.
111. CLEMETSON CA, ANDERSEN L. ASCORBIC ACID METABOLISM IN PREECLAMPSIA. *Obstet Gynecol* 1964; 24:744-82.
112. Clyman RI. Ductus arteriosus: current theories of prenatal and postnatal regulation. *Semin Perinatol* 1987; 11(1):64-71.
113. Clyman RI, Saugstad OD, Mauray F. Reactive oxygen metabolites relax the lamb ductus arteriosus by stimulating prostaglandin production. *Circ Res* 1989; 64(1):1-8.
114. Colwell JA, Chambers A, Laimins M. Inhibition of labile aggregation-stimulating substance (LASS) and platelet aggregation in diabetes mellitus. *Diabetes* 1975; 24(7):684-7.
115. Cooke BM, Stuart J. Automated measurement of plasma viscosity by capillary viscometer. *J Clin Pathol* 1988; 41(11):1213-6.
116. Crawford MA, Costeloe K, Ghebremeskel K, Phylactos A, Skirvin L, Stacey F. Are deficits of arachidonic and docosahexaenoic acids responsible for the neural and vascular complications of preterm babies? *Am J Clin Nutr* 1997; 66(4 Suppl):1032S-41S.
117. Crawford MA, Doyle W, Leaf A, Leighfield M, Ghebremeskel K, Phylactos A. Nutrition and neurodevelopmental disorders. *Nutr Health* 1993; 9(2):81-97.
118. Crystal RG. Gene therapy strategies for pulmonary disease. *Am J Med* 1992;

92(6A):44S-52S.

119. Davis JM. Role of oxidant injury in the pathogenesis of neonatal lung disease. *Acta Paediatr Suppl* 2002; 91(437):23-5.

120. Dennery PA, McDonagh AF, Spitz DR, Rodgers PA, Stevenson DK. Hyperbilirubinemia results in reduced oxidative injury in neonatal Gunn rats exposed to hyperoxia. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(4):395-404.

121. deRegnier RA, Georgieff MK, Nelson CA. Visual event-related brain potentials in 4-month-old infants at risk for neurodevelopmental impairments. *Dev Psychobiol* 1997; 30(1):11-28.

122. Diedrich F, Renner A, Rath W, Kuhn W, Wieland E. Lipid hydroperoxides and free radical scavenging enzyme activities in preeclampsia and HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count) syndrome: no evidence for circulating primary products of lipid peroxidation. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185(1):166-72.

123. Dintenfass L. First experiment on Aggregation of Red Cells and blood viscosity under zero gravity on STS 51-C, January 24 1985. *Clin Hemorheol* 1985; 5(2):171-2.

124. Domenech E, Castro R, Casabona C, Mendez A, Ormazabal C, Rodriguez Luis JC. [Electroencephalographic maturation in preterm newborn infants]. *An Esp Pediatr* 1989; 31(3):221-8.

125. Douret L. Deleterious effects of the prone position in the full-term infant throughout the first year of life. *Child Care Health Dev* 1993; 19(3):167-84.

126. Dowling DD, Romero RJ, Mitchell MD, Lundin-Schiller S. Isolation of multiple substances in amniotic fluid that regulate amnion prostaglandin E2 production: the effects of gestational age and labor. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1991; 44(4):253-5.

127. Drotar D, Hack M, Taylor G, Schluchter M, Andreias L, Klein N. The impact of extremely low birth weight on the families of school-aged children. *Pediatrics* 2006; 117(6):2006-13.

128. Drotar D, Olness K, Wiznitzer M *et al.* Neurodevelopmental outcomes of Ugandan infants with HIV infection: an application of growth curve analysis. *Health Psychol* 1999; 18(2):114-21.

129. DUCKMAN S, MERK H, LEHMANN WX, REGAN E. The importance of gravity in delayed ligation of the umbilical cord. *Am J Obstet Gynecol* 1953; 66(6):1214-23.

130. Ducsay CA, Cook MJ, Walsh SW, Novy MJ. Circadian patterns and dexamethasone-induced changes in uterine activity in pregnant rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol* 1983; 145(4):389-96.

131. Dudley DJ. Pre-term labor: an intra-uterine inflammatory response syndrome? *J Reprod Immunol* 1997; 36(1-2):93-109.

132. Durante W, Kroll MH, Vanhoutte PM, Schafer AI. Endothelium-derived relaxing factor inhibits thrombin-induced platelet aggregation by inhibiting platelet phospholipase C. *Blood* 1992; 79(1):110-6.
133. Dvorakova M, Sivonova M, Trebaticka J *et al.* The effect of polyphenolic extract from pine bark, Pycnogenol on the level of glutathione in children suffering from attention deficit hyperactivity disorder (ADHD). *Redox Rep* 2006; 11(4):163-72.
134. Emhamed MO, van Rheenen P, Brabin BJ. The early effects of delayed cord clamping in term infants born to Libyan mothers. *Trop Doct* 2004; 34(4):218-22.
135. 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; 1(2):165-9.
136. ERNSTER L, LEE CP. BIOLOGICAL OXIDOREDUCTIONS. *Annu Rev Biochem* 1964; 33:729-90.
137. Eschenbach DA. Ureaplasma urealyticum and premature birth. *Clin Infect Dis* 1993; 17 Suppl 1:S100-6.
138. Falk B, Eliakim A, Dotan R, Liebermann DG, Regev R, Bar-Or O. Birth weight and physical ability in 5- to 8-yr-old healthy children born prematurely. *Med Sci Sports Exerc* 1997; 29(9):1124-30.
139. Feldman R, Eidelman AI. Intervention programs for premature infants. How and do they affect development? *Clin Perinatol* 1998; 25(3):613-26, ix.
140. Ferriero DM. Oxidant mechanisms in neonatal hypoxia-ischemia. *Dev Neurosci* 2001; 23(3):198-202.
141. Fewtrell MS, Morley R, Abbott RA *et al.* Double-blind, randomized trial of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation in formula fed to preterm infants. *Pediatrics* 2002; 110(1 Pt 1):73-82.
142. Fily A, Pierrat V, Delporte V, Breart G, Truffert P. Factors associated with neurodevelopmental outcome at 2 years after very preterm birth: the population-based Nord-Pas-de-Calais EPIPAGE cohort. *Pediatrics* 2006; 117(2):357-66. Notes: CORPORATE NAME: EPIPAGE Nord-Pas-de-Calais Study Group
143. Finer NN, Barrington KJ. Nitric oxide for respiratory failure in infants born at or near term. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (4):CD000399.
144. Flamant C, Lorino E, Nolent P *et al.* [Newborn infants supported by extracorporeal membrane oxygenation: survival and clinical outcome.]. *Arch Pediatr* 2007.
145. Flohe L, Gunzler WA. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 1984; 105:114-21.
146. Flohe L, Schlegel W. [Glutathione peroxidase. IV. Intracellular distribution of the glutathione peroxidase system in the rat liver]. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem* 1971; 352(10):1401-10.

147. Fogel I, Pinchuk I, Kupferminc MJ, Lichtenberg D, Fainaru O. Oxidative stress in the fetal circulation does not depend on mode of delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193(1):241-6.
148. Foley ME, Isherwood DM, McNicol GP. Viscosity, haematocrit, fibrinogen and plasma proteins in maternal and cord blood. *Br J Obstet Gynaecol* 1978; 85(7):500-4.
149. Foote CS. Mechanisms of photooxygenation. *Prog Clin Biol Res* 1984; 170:3-18.
150. Frank DJ, Gabriel M. Timing of cord ligation and newborn respiratory distress. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 97(8):1142-4.
151. Frank L, Price LT, Whitney PL. Possible mechanism for late gestational development of the antioxidant enzymes in the fetal rat lung. *Biol Neonate* 1996; 70(2):116-27.
152. Frankel EN. Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. *Prog Lipid Res* 1984; 23(4):197-221.
153. Fridovich I. Superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 1975; 44:147-59.
154. Friedman SA, Lubarsky SL, Ahokas RA, Nova A, Sibai BM. Preeclampsia and related disorders. Clinical aspects and relevance of endothelin and nitric oxide. *Clin Perinatol* 1995; 22(2):343-55.
155. Friel JK, Martin SM, Langdon M, Herzberg GR, Buettner GR. Milk from mothers of both premature and full-term infants provides better antioxidant protection than does infant formula. *Pediatr Res* 2002; 51(5):612-8.
156. Frischer H, Chu LK, Ahmad T, Justice P, Smith GF. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase abnormalities in erythrocytes and lymphoid cells in Down syndrome. *Prog Clin Biol Res* 1981; 55:269-89.
157. Garcia-Navarro ME, Tacoronte M, Sarduy I *et al.* [Influence of early stimulation in cerebral palsy]. *Rev Neurol* 2000; 31(8):716-9.
158. Gaton DD, Gold J, Axer-Siegel R, Wielunsky E, Naor N, Nissenkorn I. Evaluation of bilirubin as possible protective factor in the prevention of retinopathy of prematurity. *Br J Ophthalmol* 1991; 75(9):532-4.
159. 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(2):103-6.
160. Gemma S, Vichi S, Testai E. Metabolic and genetic factors contributing to alcohol induced effects and fetal alcohol syndrome. *Neurosci Biobehav Rev* 2007; 31(2):221-9.
161. Georgeson GD, Szony BJ, Streitman K *et al.* Antioxidant enzyme activities are decreased in preterm infants and in neonates born via caesarean section. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002; 103(2):136-9.
162. Georgieff MK, Landon MB, Mills MM *et al.* Abnormal iron distribution in infants of diabetic mothers: spectrum and maternal antecedents. *J Pediatr* 1990; 117(3):455-61.

163. Gericke GS. Reactive oxygen species and related haem pathway components as possible epigenetic modifiers in neurobehavioural pathology. *Med Hypotheses* 2006; 66(1):92-9.
164. Ghafourifar P, Richter C. Nitric oxide synthase activity in mitochondria. *FEBS Lett* 1997; 418(3):291-6.
165. Ghafourifar P, Schenk U, Klein SD, Richter C. Mitochondrial nitric-oxide synthase stimulation causes cytochrome c release from isolated mitochondria. Evidence for intramitochondrial peroxynitrite formation. *J Biol Chem* 1999; 274(44):31185-8.
166. Gibbs RS, Romero R, Hillier SL, Eschenbach DA, Sweet RL. A review of premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166(5):1515-28.
167. Gillery P, Monboisse JC, Maquart FX, Borel JP. [Aging mechanisms of proteins]. *Diabete Metab* 1991; 17(1):1-16.
168. Giulivi C, Poderoso JJ, Boveris A. Production of nitric oxide by mitochondria. *J Biol Chem* 1998; 273(18):11038-43.
169. Golan H, Kashtuzki I, Hallak M, Sorokin Y, Huleihel M. Maternal hypoxia during pregnancy induces fetal neurodevelopmental brain damage: partial protection by magnesium sulfate. *J Neurosci Res* 2004; 78(3):430-41.
170. Gomez R, Ghezzi F, Romero R, Munoz H, Tolosa JE, Rojas I. Premature labor and intra-amniotic infection. Clinical aspects and role of the cytokines in diagnosis and pathophysiology. *Clin Perinatol* 1995; 22(2):281-342.
171. Gomez Vida JM, Bayes Garcia R, Molina Font JA. [Materno-fetal nutritional status related to vitamin E]. *An Esp Pediatr* 1992; 36(3):197-200.
172. Goodman M, Rothberg AD. Neurodevelopmental predictors of short-term outcome in very-low-birth-weight infants. *S Afr Med J* 1987; 71(11):687-9.
173. Gottlieb RA. Programmed cell death. *Drug News Perspect* 2000; 13(8):471-6.
174. Govitrapong P, Murrin LC, Ebadi M. Characterization of dopaminergic receptor sites in bovine pineal gland. *J Pineal Res* 1984; 1(3):215-26.
175. Grajeda R, Perez-Escamilla R, Dewey KG. Delayed clamping of the umbilical cord improves hematologic status of Guatemalan infants at 2 mo of age. *Am J Clin Nutr* 1997; 65(2):425-31.
176. Grandhee SK, Monnier VM. Mechanism of formation of the Maillard protein cross-link pentosidine. Glucose, fructose, and ascorbate as pentosidine precursors. *J Biol Chem* 1991; 266(18):11649-53.
177. Gratacos E, Casals E, Deulofeu R *et al.* Serum and placental lipid peroxides in chronic hypertension during pregnancy with and without superimposed preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 1999; 18(2):139-46.
178. Grether JK, Nelson KB, Dambrosia JM, Phillips TM. Interferons and cerebral

palsy. *J Pediatr* 1999; 134(3):324-32.

179. Griffiths EJ, Halestrap AP. Mitochondrial non-specific pores remain closed during cardiac ischaemia, but open upon reperfusion. *Biochem J* 1995; 307 (Pt 1):93-8.

180. Groenendaal F, van der Grond J, van Haastert IC, Eken P, Mali WP, de Vries LS. [Findings in cerebral proton spin resonance spectroscopy in newborn infants with asphyxia, and psychomotor development]. *Ned Tijdschr Geneesk* 1996; 140(5):255-9.

181. Gross RT, Bracci R, Rudolph N, Schroeder E, Kochen JA. Hydrogen peroxide toxicity and detoxification in the erythrocytes of newborn infants. *Blood* 1967; 29(4):481-93.

182. Guajardo L, Beharry KD, Modanlou HD, Aranda JV. Ascorbic acid concentrations in umbilical cord veins and arteries of preterm and term newborns. *Biol Neonate* 1995; 68(1):1-9.

183. GUNTHER M. The transfer of blood between baby and placenta in the minutes after birth. *Lancet* 1957; 272(6982):1277-80.

184. Gupta R, Ramji S. Effect of delayed cord clamping on iron stores in infants born to anemic mothers: a randomized controlled trial. *Indian Pediatr* 2002; 39(2):130-5.

185. Haataja L, Mercuri E, Cowan F, Dubowitz L. Cranial ultrasound abnormalities in full term infants in a postnatal ward: outcome at 12 and 18 months. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000; 82(2):F128-33.

186. Haddad IY, Pataki G, Hu P, Galliani C, Beckman JS, Matalon S. Quantitation of nitrotyrosine levels in lung sections of patients and animals with acute lung injury. *J Clin Invest* 1994; 94(6):2407-13.

187. Hadders-Algra M, Klip-Van den Nieuwendijk A, Martijn A, van Eykern LA. Assessment of general movements: towards a better understanding of a sensitive method to evaluate brain function in young infants. *Dev Med Child Neurol* 1997; 39(2):88-98.

188. Haest CW, Erusalimsky J, Dressler V, Kunze I, Deuticke B. Transbilayer mobility of phospholipids in the erythrocyte membrane. Influence of the membrane skeleton. *Biomed Biochim Acta* 1983; 42(11-12):S17-21.

189. Halliwell B, Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr* 1993; 57(5 Suppl):715S-24S; discussion 724S-725S.

190. Halliwell B, Gutteridge JM. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995; 18(1):125-6.

191. Hamrick SE, Miller SP, Newton NR *et al.* Nucleated red blood cell counts: not associated with brain injury or outcome. *Pediatr Neurol* 2003; 29(4):278-83.

192. Hanahan DJ, Ekholm JE. The preparation of red cell ghosts (membranes). *Methods Enzymol* 1974; 31(Pt A):168-72.

193. Hanrahan JD, Cox IJ, Edwards AD *et al.* Persistent increases in cerebral lactate concentration after birth asphyxia. *Pediatr Res* 1998; 44(3):304-11.

194. Hardeland R, Balzer I, Poeggeler B *et al.* On the primary functions of melatonin in evolution: mediation of photoperiodic signals in a unicell, photooxidation, and scavenging of free radicals. *J Pineal Res* 1995; 18(2):104-11.

195. Hayashibe H, Asayama K, Dobashi K, Kato K. Prenatal development of antioxidant enzymes in rat lung, kidney, and heart: marked increase in immunoreactive superoxide dismutases, glutathione peroxidase, and catalase in the kidney. *Pediatr Res* 1990; 27(5):472-5.

196. Heaton MB, Mitchell JJ, Paiva M. Amelioration of ethanol-induced neurotoxicity in the neonatal rat central nervous system by antioxidant therapy. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24(4):512-8.

197. Henderson GI, Chen JJ, Schenker S. Ethanol, oxidative stress, reactive aldehydes, and the fetus. *Front Biosci* 1999; 4:D541-50.

198. Herrgard E, Luoma L, Tuppurainen K, Karjalainen S, Martikainen A. Neurodevelopmental profile at five years of children born at < or = 32 weeks gestation. *Dev Med Child Neurol* 1993; 35(12):1083-96.

199. Heyman E, Ohlsson A, Girschek P. Retinopathy of prematurity and bilirubin. *N Engl J Med* 1989; 320(4):256.

200. Hicks BA, Altman RP. The jaundiced newborn. *Pediatr Clin North Am* 1993; 40(6):1161-75.

201. Hintz SR, Kendrick DE, Stoll BJ *et al.* Neurodevelopmental and growth outcomes of extremely low birth weight infants after necrotizing enterocolitis. *Pediatrics* 2005; 115(3):696-703.

Notes: CORPORATE NAME: NICHD Neonatal Research Network

202. Ho NK. Resuscitation of the small baby--is there a limit? *Singapore Med J* 1992; 33(6):595-6.

Notes: GENERAL NOTE: KIE: KIE BoB Subject Heading: allowing to die/infants
GENERAL NOTE: KIE: KIE BoB Subject Heading: selection for treatment
GENERAL NOTE: KIE: Full author name: Ho, NK

203. Hoehn T, Krause MF, Buhner C. Meta-analysis of inhaled nitric oxide in premature infants: an update. *Klin Padiatr* 2006; 218(2):57-61.

204. Hofmeyr GJ, Bolton KD, Bowen DC, Govan JJ. Periventricular/intraventricular haemorrhage and umbilical cord clamping. Findings and hypothesis. *S Afr Med J* 1988; 73(2):104-6.

205. Hogan AM, Kirkham FJ, Prengler M *et al.* An exploratory study of physiological correlates of neurodevelopmental delay in infants with sickle cell anaemia. *Br J Haematol* 2006; 132(1):99-107.

206. Hohmann M. [Early or late cord clamping? A question of optimal time]. *Wien*

Klin Wochenschr 1985; 97(11):497-500.

207. HOLLAND WW, YOUNG IM. Neonatal blood pressure in relation to maturity, mode of delivery, and condition at birth. *Br Med J* 1956; 2(5005):1331-3.

208. Huertas JR, Battino M, Lenaz G, Mataix FJ. Changes in mitochondrial and microsomal rat liver coenzyme Q9 and Q10 content induced by dietary fat and endogenous lipid peroxidation. *FEBS Lett* 1991; 287(1-2):89-92.

209. Huertas JR, Mataix FJ, Manas M, Bargossi AM, Battino M. Dietary polyunsaturated fatty acids and peroxidative risks in sport practice. *Alternatives. J Sports Med Phys Fitness* 1994; 34(2):101-8.

210. Huertas JR, Palomino N, Ochoa JJ *et al.* Lipid peroxidation and antioxidants in erythrocyte membranes of full-term and preterm newborns. *Biofactors* 1998; 8(1-2):133-7.

211. Hug TE, Fitzgerald KM, Cibis GW. Clinical and electroretinographic findings in fetal alcohol syndrome. *J AAPOS* 2000; 4(4):200-4.

212. Hui SW, Stewart CM, Carpenter MP, Stewart TP. Effects of cholesterol on lipid organization in human erythrocyte membrane. *J Cell Biol* 1980; 85(2):283-91.

213. Hung KL, Liao HT. Neonatal choroid plexus cysts and early childhood developmental outcome. *J Formos Med Assoc* 2002; 101(1):43-7.

214. Hunt CE, Corwin MJ, Baird T *et al.* Cardiorespiratory events detected by home memory monitoring and one-year neurodevelopmental outcome. *J Pediatr* 2004; 145(4):465-71.

Notes: CORPORATE NAME: Collaborative Home Infant Monitoring Evaluation study group

215. Ibrahim HM, Krouskop RW, Lewis DF, Dhanireddy R. Placental transfusion: umbilical cord clamping and preterm infants. *J Perinatol* 2000; 20(6):351-4.

216. Ichiba H, Matsunami S, Itoh F, Ueda T, Ohsasa Y, Yamano T. Three-year follow up of term and near-term infants treated with inhaled nitric oxide. *Pediatr Int* 2003; 45(3):290-3.

217. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84(24):9265-9.

218. Ip S, Chung M, Kulig J *et al.* An evidence-based review of important issues concerning neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 2004; 114(1):e130-53.
Notes: CORPORATE NAME: American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia

219. Ivanans T. Effect of maternal education and ethnic background on infant development. *Arch Dis Child* 1975; 50(6):454-7.

220. Jack MM, Greer RM, Thomsett MJ *et al.* The outcome in Australian children with

hyperinsulinism of infancy: early extensive surgery in severe cases lowers risk of diabetes. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 58(3):355-64.

221. Jackson RM. Pulmonary oxygen toxicity. *Chest* 1985; 88(6):900-5.

222. Jacobs P, Finer NN, Fassbender K, Hall E, Robertson CM. Cost-effectiveness of inhaled nitric oxide in near-term and term infants with respiratory failure: eighteen- to 24-month follow-up for Canadian patients. *Crit Care Med* 2002; 30(10):2330-4.

223. Jacobson SW, Jacobson JL, Sokol RJ, Chiodo LM, Corobana R. Maternal age, alcohol abuse history, and quality of parenting as moderators of the effects of prenatal alcohol exposure on 7.5-year intellectual function. *Alcohol Clin Exp Res* 2004; 28(11):1732-45.

224. Jain SK. Membrane lipid peroxidation in erythrocytes of the newborn. *Clin Chim Acta* 1986; 161(3):301-6.

225. 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 Suppl* 1957; 46(suppl 112):1-91.

226. Jelliffe-Pawlowski LL, Hansen RL. Neurodevelopmental outcome at 8 months and 4 years among infants born full-term small-for-gestational-age. *J Perinatol* 2004; 24(8):505-14.

227. Jendryczko A, Drozd M, Wojcik A. Regional variations in the activities of antioxidant enzymes in the term human placenta. *Zentralbl Gynakol* 1991; 113(19):1059-66.

228. Jendryczko A, Tomala J. [Decreased activity of oxidoreductases in erythrocytes and blood platelets from venous and umbilical blood of women with pregnancy-induced hypertension]. *Ginekol Pol* 1995; 66(12):656-9.

229. Johnson L, Quinn GE, Abbasi S, Gerdes J, Bowen FW, Bhutani V. Severe retinopathy of prematurity in infants with birth weights less than 1250 grams: incidence and outcome of treatment with pharmacologic serum levels of vitamin E in addition to cryotherapy from 1985 to 1991. *J Pediatr* 1995; 127(4):632-9.

230. Johnson L, Quinn GE, Abbasi S *et al.* Effect of sustained pharmacologic vitamin E levels on incidence and severity of retinopathy of prematurity: a controlled clinical trial. *J Pediatr* 1989; 114(5):827-38.

231. Kainer F, Prechtel HF, Engele H, Einspieler C. Assessment of the quality of general movements in fetuses and infants of women with type-I diabetes mellitus. *Early Hum Dev* 1997; 50(1):13-25.

232. Kamath U, Rao G, Raghothama C, Rai L, Rao P. Erythrocyte indicators of oxidative stress in gestational diabetes. *Acta Paediatr* 1998; 87(6):676-9.

233. Kamphuis PJ, Croiset G, Bakker JM, Van Bel F, Van Ree JM, Wiegant VM. Neonatal dexamethasone treatment affects social behaviour of rats in later life. *Neuropharmacology* 2004; 47(3):461-74.

234. Kanofsky JR, Sima P. Singlet oxygen production from the reactions of ozone with biological molecules. *J Biol Chem* 1991; 266(14):9039-42.
235. Karowicz-Bilinska A, Kowalska-Koprek U, Suzin J, Sieroszewski P. [Total antioxidative activity measured by ABTS method in pregnant women treated with L-arginine for IUGR]. *Ginekol Pol* 2003; 74(10):1130-6.
236. Katz J, Rodriguez E, Mandani G, Branson HE. Normal coagulation findings, thrombocytopenia, and peripheral hemoconcentration in neonatal polycythemia. *J Pediatr* 1982; 101(1):99-102.
237. Katz-Salamon M, Allert K, Bergstrom BM, Ericsson K, Hesser U, Forssberg H. Perinatal risk factors and neuromotor behaviour during the neonatal period. *Acta Paediatr Suppl* 1997; 419:27-36.
238. Katz-Salamon M, Gerner EM, Jonsson B, Lagercrantz H. Early motor and mental development in very preterm infants with chronic lung disease. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000; 83(1):F1-6.
239. Kaya H, Oral B, Dittrich R, Ozkaya O. Lipid peroxidation in umbilical arterial blood at birth: the effects of breech delivery. *BJOG* 2000; 107(8):982-6.
240. Kelly FJ. Free radical disorders of preterm infants. *Br Med Bull* 1993; 49(3):668-78.
241. Kelly FJ, Cheeseman KH. Distribution of vitamin E between tissues during periods of hyperoxic and nutritional stress in the preterm guinea pig. *Comp Biochem Physiol Comp Physiol* 1993; 105(3):549-54.
242. Kelly FJ, Lubec G. Hyperoxic injury of immature guinea pig lung is mediated via hydroxyl radicals. *Pediatr Res* 1995; 38(3):286-91.
243. Kilbride HW, Thorstad K, Daily DK. Preschool outcome of less than 801-gram preterm infants compared with full-term siblings. *Pediatrics* 2004; 113(4):742-7.
244. Kinalski M, Sledziewski A, Telejko B, Kowalska I, Kretowski A, Kinalska I. [Evaluation of lipid peroxidation and acid-base status in cord blood of newborns after diabetes in pregnancy]. *Przegl Lek* 2001; 58(3):120-3.
245. Kinalski M, Telejko B, Kowalska I, Urban J, Kinalska I. [The evaluation of lipid peroxidation products and antioxidative enzymes activity in cord blood and placental homogenates of pregnant diabetic women]. *Ginekol Pol* 1999; 70(2):57-61.
246. Kinmond S, Aitchison TC, Holland BM, Jones JG, Turner TL, Wardrop CA. Umbilical cord clamping and preterm infants: a randomised trial. *BMJ* 1993; 306(6871):172-5.
247. KIRSCHBAUM TH. Variability of magnitude of the Bohr effect in human fetal blood. *J Appl Physiol* 1963; 18:729-33.
248. Kivlahan C, James EJ. The natural history of neonatal jaundice. *Pediatrics* 1984; 74(3):364-70.

249. Kneepkens CM, Lepage G, Roy CC. The potential of the hydrocarbon breath test as a measure of lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1994; 17(2):127-60.
250. Konduri GG, Vohr B, Robertson C *et al.* Early inhaled nitric oxide therapy for term and near-term newborn infants with hypoxic respiratory failure: neurodevelopmental follow-up. *J Pediatr* 2007; 150(3):235-40, 240.e1. Notes: CORPORATE NAME: Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study Group
251. Krinsky NI. Carotenoids as chemopreventive agents. *Prev Med* 1989; 18(5):592-602.
252. Kuenzle C, Baenziger O, Martin E *et al.* Prognostic value of early MR imaging in term infants with severe perinatal asphyxia. *Neuropediatrics* 1994; 25(4):191-200.
253. Kukreja RC, Kontos HA, Hess ML, Ellis EF. PGH synthase and lipoxygenase generate superoxide in the presence of NADH or NADPH. *Circ Res* 1986; 59(6):612-9.
254. Kulak W, Sobaniec W, Solowej E, Sobaniec H. Antioxidant enzymes and lipid peroxides in children with cerebral palsy. *Life Sci* 2005; 77(24):3031-6.
255. Kunert KJ, Tappel AL. The effect of vitamin C on in vivo lipid peroxidation in guinea pigs as measured by pentane and ethane production. *Lipids* 1983; 18(4):271-4.
256. Kunzel W. [Cord clamping at birth - considerations for choosing the right time (author's transl)]. *Z Geburtshilfe Perinatol* 1982; 186(2):59-64.
257. La Pine TR, Jackson JC, Bennett FC. Outcome of infants weighing less than 800 grams at birth: 15 years' experience. *Pediatrics* 1995; 96(3 Pt 1):479-83.
258. Lackmann GM, Hesse L, Tollner U. Reduced iron-associated antioxidants in premature newborns suffering intracerebral hemorrhage. *Free Radic Biol Med* 1996; 20(3):407-9.
259. Lainez Villabona B, Bergel Ayllon E, Cafferata Thompson ML, Belizan Chiesa JM. [Early or late umbilical cord clamping? A systematic review of the literature]. *An Pediatr (Barc)* 2005; 63(1):14-21.
260. LANZKOWSKY P. Effects of early and late clamping of umbilical cord on infant's haemoglobin level. *Br Med J* 1960; 2(5215):1777-82.
261. Lapinsky SE, Mehta S. Activated protein C for preeclampsia: tailoring the disease to the therapy. *Crit Care Med* 2002; 30(8):1929-30.
262. Larcen A, Stoltz JF, Gaillard S. [Blood viscosity. Measurement and applications (hyper- and hypoviscosity syndromes) (author's transl)]. *Nouv Presse Med* 1981; 10(17):1411-5.
263. Lasker MR, Holzman IR. Neonatal jaundice: when to treat, when to watch and wait. *Postgrad Med* 1996; 99(3):187-93, 197-8.
264. Laskowska-Klita T, Szymborski J, Chelchowska M, Czerwinska B, Kucharski KT. [Levels of lipid peroxides and of some antioxidants in placenta and cord blood of

newborns whose mothers smoked during pregnancy]. *Med Wieku Rozwoj* 2001; 5(1):35-42.

265. Leach RE, Romero R, Kim YM *et al.* Pre-eclampsia and expression of heparin-binding EGF-like growth factor. *Lancet* 2002; 360(9341):1215-9.

266. Leffler CW, Thompson CC, Armstead WM, Mirro R, Shibata M, Busija DW. Superoxide scavengers do not prevent ischemia-induced alteration of cerebral vasodilation in piglets. *Pediatr Res* 1993; 33(2):164-70.

267. Li X, Pan M, Zhuang Y, Liu W. [Effects of fetal anoxia and acidosis on superoxide dismutase]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2002; 37(4):205-7.

268. 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(4):305-10.

269. Lin HJ, Huang CC, Hsu KS. Effects of neonatal dexamethasone treatment on hippocampal synaptic function. *Ann Neurol* 2006; 59(6):939-51.

270. Lind C, Hochstein P, Ernster L. DT-diaphorase as a quinone reductase: a cellular control device against semiquinone and superoxide radical formation. *Arch Biochem Biophys* 1982; 216(1):178-85.

271. Lind J. Physiological adaptation to the placental transfusion: the eleventh blackader lecture. *Can Med Assoc J* 1965; 93(21):1091-100.

272. Lind J. Placental transfusion and cardio-respiratory adaptation of the newborn infant. *Ann Paediatr Fenn* 1968; 14(1):1-10.

273. Lindahl E, Michelsson K. Neurodevelopmental significance of minor and major congenital anomalies in neonatal high risk children. *Neuropediatrics* 1986; 17(2):86-93.

274. Linderkamp O. Placental transfusion: determinants and effects. *Clin Perinatol* 1982; 9(3):559-92.

275. 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(10):745-50.

276. Linderkamp O, Versmold HT, Riegel KP, Betke K. Contributions of red cells and plasma to blood viscosity in preterm and full-term infants and adults. *Pediatrics* 1984; 74(1):45-51.

277. Little RE, Gladen BC. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy: a review of the literature. *Reprod Toxicol* 1999; 13(5):347-52.

278. Litvinenko LA, Danilova LA, Shabalov NP. [Changes in the system of antioxidant blood defence in newborns with different pathology]. *Vopr Med Khim* 2002; 48(5):513-8.

279. Loschen G, Azzi A, Flohe L. Mitochondrial H₂O₂ formation: relationship with energy conservation. *FEBS Lett* 1973; 33(1):84-7.
280. LOW JA, KERR ND, COCHON AR. PLASMA AND BLOOD VOLUME OF THE NORMAL NEWBORN INFANT AND PATTERNS OF ADJUSTMENT IN INITIAL 24 HOURS OF THE NEONATAL PERIOD. *Am J Obstet Gynecol* 1963; 86:886-92.
281. Lowe J, Papile L. Neurodevelopmental performance of very-low-birth-weight infants with mild periventricular, intraventricular hemorrhage. Outcome at 5 to 6 years of age. *Am J Dis Child* 1990; 144(11):1242-5.
282. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120(3):227-37.
283. LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193(1):265-75.
284. Lyell DJ, Lambert-Messerlian GM, Giudice LC. Prenatal screening, epidemiology, diagnosis, and management of preeclampsia. *Clin Lab Med* 2003; 23(2):413-42.
285. Mahadik SP, Pillai A, Joshi S, Foster A. Prevention of oxidative stress-mediated neuropathology and improved clinical outcome by adjunctive use of a combination of antioxidants and omega-3 fatty acids in schizophrenia. *Int Rev Psychiatry* 2006; 18(2):119-31.
286. Maisels MJ, Newman TB. Kernicterus in otherwise healthy, breast-fed term newborns. *Pediatrics* 1995; 96(4 Pt 1):730-3.
287. Maisels MJ, Vain N, Acquavita AM, de Blanco NV, Cohen A, DiGregorio J. The effect of breast-feeding frequency on serum bilirubin levels. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170(3):880-3.
Notes: GENERAL NOTE: PIP: TJ: AMERICAN JOURNAL OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY.
288. Majnemer A, Rosenblatt B. Prediction of outcome at school entry in neonatal intensive care unit survivors, with use of clinical and electrophysiologic techniques. *J Pediatr* 1995; 127(5):823-30.
289. Mak IT, Weglicki WB. Antioxidant activity of calcium channel blocking drugs. *Methods Enzymol* 1994; 234:620-30.
290. Malak TM, Ockleford CD, Bell SC, Dalglish R, Bright N, Macvicar J. Confocal immunofluorescence localization of collagen types I, III, IV, V and VI and their ultrastructural organization in term human fetal membranes. *Placenta* 1993; 14(4):385-406.
291. Many A, Hubel CA, Roberts JM. Hyperuricemia and xanthine oxidase in preeclampsia, revisited. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174(1 Pt 1):288-91.
292. Marcillat O, Zhang Y, Davies KJ. Oxidative and non-oxidative mechanisms in the

inactivation of cardiac mitochondrial electron transport chain components by doxorubicin. *Biochem J* 1989; 259(1):181-9.

293. Marletta MA. Nitric oxide synthase: function and mechanism. *Adv Exp Med Biol* 1993; 338:281-4.

294. Marletta MA. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 1993; 268(17):12231-4.

295. Marron MJ, Crisafi MA, Driscoll JM Jr *et al.* Hearing and neurodevelopmental outcome in survivors of persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 1992; 90(3):392-6.

296. Marschik PB, Einspieler C, Garzarolli B, Pechtl HF. Events at early development: are they associated with early word production and neurodevelopmental abilities at the preschool age? *Early Hum Dev* 2007; 83(2):107-14.

297. Martin RJ, Fanaroff AA. Delivery room management of the low birth weight infant. *Clin Obstet Gynecol* 1984; 27(3):636-46.

298. Matilainen R, Heinonen K, Siren-Tiusanen H, Jokela V, Launiala K. Neurodevelopmental screening of in utero growth-retarded prematurely born children before school age. *Eur J Pediatr* 1987; 146(5):453-7.

299. Matsubasa T, Uchino T, Karashima S *et al.* Oxidative stress in very low birth weight infants as measured by urinary 8-OHdG. *Free Radic Res* 2002; 36(2):189-93.

300. Matuszak Z, Reszka K, Chignell CF. Reaction of melatonin and related indoles with hydroxyl radicals: EPR and spin trapping investigations. *Free Radic Biol Med* 1997; 23(3):367-72.

301. Maunu J, Ekholm E, Parkkola R *et al.* Antenatal Doppler measurements and early brain injury in very low birth weight infants. *J Pediatr* 2007; 150(1):51-6.e1. Notes: CORPORATE NAME: PIPARI Study Group

302. McCue CM, Garner FB, Hurt WG, Schelin EC, Sharpe AR Jr. Placental transfusion. *J Pediatr* 1968; 72(1):15-21.

303. McDonagh AF. Is bilirubin good for you? *Clin Perinatol* 1990; 17(2):359-69.

304. McDonnell M, Henderson-Smart DJ. Delayed umbilical cord clamping in preterm infants: a feasibility study. *J Paediatr Child Health* 1997; 33(4):308-10.

305. McNeill JM, Wills ED. The formation of mutagenic derivatives of benzo[a]pyrene by peroxidising fatty acids. *Chem Biol Interact* 1985; 53(1-2):197-207.

306. Ment LR, Vohr B, Allan W *et al.* Change in cognitive function over time in very low-birth-weight infants. *JAMA* 2003; 289(6):705-11.

307. Ment LR, Vohr B, Allan W *et al.* The etiology and outcome of cerebral ventriculomegaly at term in very low birth weight preterm infants. *Pediatrics* 1999; 104(2 Pt 1):243-8.

308. Ment LR, Vohr B, Allan W *et al.* Outcome of children in the indomethacin intraventricular hemorrhage prevention trial. *Pediatrics* 2000; 105(3 Pt 1):485-91.
309. Ment LR, Vohr B, Oh W *et al.* Neurodevelopmental outcome at 36 months' corrected age of preterm infants in the Multicenter Indomethacin Intraventricular Hemorrhage Prevention Trial. *Pediatrics* 1996; 98(4 Pt 1):714-8.
310. Mentzer WC. Polycythaemia and the hyperviscosity syndrome in newborn infants. *Clin Haematol* 1978; 7(1):63-74.
311. Mercer JS. Current best evidence: a review of the literature on umbilical cord clamping. *J Midwifery Womens Health* 2001; 46(6):402-14.
312. Mercer JS, McGrath MM, Hensman A, Silver H, Oh W. Immediate and delayed cord clamping in infants born between 24 and 32 weeks: a pilot randomized controlled trial. *J Perinatol* 2003; 23(6):466-72.
313. Mercer JS, Nelson CC, Skovgaard RL. Umbilical cord clamping: beliefs and practices of American nurse-midwives. *J Midwifery Womens Health* 2000; 45(1):58-66.
314. Mercer JS, Skovgaard RL. Neonatal transitional physiology: a new paradigm. *J Perinat Neonatal Nurs* 2002; 15(4):56-75.
315. Mercer JS, Vohr BR, McGrath MM, Padbury JF, Wallach M, Oh W. Delayed cord clamping in very preterm infants reduces the incidence of intraventricular hemorrhage and late-onset sepsis: a randomized, controlled trial. *Pediatrics* 2006; 117(4):1235-42.
316. Merritt TA, Cochrane CG, Holcomb K *et al.* Elastase and alpha 1-proteinase inhibitor activity in tracheal aspirates during respiratory distress syndrome. Role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *J Clin Invest* 1983; 72(2):656-66.
317. Mestan KK, Marks JD, Hecox K, Huo D, Schreiber MD. Neurodevelopmental outcomes of premature infants treated with inhaled nitric oxide. *N Engl J Med* 2005; 353(1):23-32.
318. 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(9):1035-44.
319. Michelsson K, Noronen M. Neurological, psychological and articulatory impairment in five-year-old children with a birthweight of 2000 g or less. *Eur J Pediatr* 1983; 141(2):96-100.
320. Mikkola K, Ritari N, Tommiska V *et al.* Neurodevelopmental outcome at 5 years of age of a national cohort of extremely low birth weight infants who were born in 1996-1997. *Pediatrics* 2005; 116(6):1391-400.
321. MILLS GC. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J Biol Chem* 1957; 229(1):189-97.

322. Minotti G, Aust SD. An investigation into the mechanism of citrate-Fe²⁺-dependent lipid peroxidation. *Free Radic Biol Med* 1987; 3(6):379-87.
323. Moncada S, Higgs EA. Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest* 1991; 21(4):361-74.
324. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43(2):109-42.
325. Monchi M, Bellenfant F, Cariou A *et al.* Early predictive factors of survival in the acute respiratory distress syndrome. A multivariate analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(4):1076-81.
326. Monte M, Sacerdote de Lustig E. [Free radicals of oxygen and superoxide dismutase. Biological and medical aspects]. *Medicina (B Aires)* 1994; 54(1):61-8.
327. MOSS AJ, DUFFIE ER Jr, FAGAN LM. Respiratory distress syndrome in the newborn. Study on the association of cord clamping and the pathogenesis of distress. *JAMA* 1963; 184:48-50.
328. Motchnik PA, Frei B, Ames BN. Measurement of antioxidants in human blood plasma. *Methods Enzymol* 1994; 234:269-79.
329. Myatt L, Eis AL, Brockman DE, Greer IA, Lyall F. Endothelial nitric oxide synthase in placental villous tissue from normal, pre-eclamptic and intrauterine growth restricted pregnancies. *Hum Reprod* 1997; 12(1):167-72.
330. Myatt L, Eis AL, Brockman DE, Kossenjans W, Greer IA, Lyall F. Differential localization of superoxide dismutase isoforms in placental villous tissue of normotensive, pre-eclamptic, and intrauterine growth-restricted pregnancies. *J Histochem Cytochem* 1997; 45(10):1433-8.
331. Myatt L, Rosenfield RB, Eis AL, Brockman DE, Greer I, Lyall F. Nitrotyrosine residues in placenta. Evidence of peroxynitrite formation and action. *Hypertension* 1996; 28(3):488-93.
332. Myers GJ, Marsh DO, Cox C *et al.* A pilot neurodevelopmental study of Seychellois children following in utero exposure to methylmercury from a maternal fish diet. *Neurotoxicology* 1995; 16(4):629-38.
333. Myers RE. Two patterns of perinatal brain damage and their conditions of occurrence. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 112(2):246-76.
334. Nagel HT, de Haan TR, Vandenbussche FP, Oepkes D, Walther FJ. Long-term outcome after fetal transfusion for hydrops associated with parvovirus B19 infection. *Obstet Gynecol* 2007; 109(1):42-7.
335. Nagel HT, Vandenbussche FP, Oepkes D, Jennekens-Schinkel A, Laan LA, Gravenhorst JB. Follow-up of children born with an umbilical arterial blood pH < 7. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 173(6):1758-64.
336. Nayler WG, Panagiotopoulos S, Elz JS, Daly MJ. Calcium-mediated damage

during post-ischaemic reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 1988; 20 Suppl 2:41-54.

337. Neal CR Jr, Weidemann G, Kabbaj M, Vazquez DM. Effect of neonatal dexamethasone exposure on growth and neurological development in the adult rat. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 287(2):R375-85.

338. Neefjes VM, Evelo CT, Baars LG, Blanco CE. Erythrocyte glutathione S transferase as a marker of oxidative stress at birth. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 81(2):F130-3.

339. Neerhof MG. Causes of intrauterine growth restriction. *Clin Perinatol* 1995; 22(2):375-85.

340. 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(5):513-20.

341. 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(3):212-6.

342. Nelle M, Zilow 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(1):189-93.

343. Nelson CW, Wei EP, Povlishock JT, Kontos HA, Moskowitz MA. Oxygen radicals in cerebral ischemia. *Am J Physiol* 1992; 263(5 Pt 2):H1356-62.

344. 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(12):655-60.

345. Nelson S, Lerner E, Needlman R, Salvator A, Singer LT. Cocaine, anemia, and neurodevelopmental outcomes in children: a longitudinal study. *J Dev Behav Pediatr* 2004; 25(1):1-9.

346. Neuringer M, Anderson GJ, Connor WE. The essentiality of n-3 fatty acids for the development and function of the retina and brain. *Annu Rev Nutr* 1988; 8:517-41.

347. Newman TB, Maisels MJ. Evaluation and treatment of jaundice in the term newborn: a kinder, gentler approach. *Pediatrics* 1992; 89(5 Pt 1):809-18.

348. Nield TA, Langenbacher D, Poulsen MK, Platzker AC. Neurodevelopmental outcome at 3.5 years of age in children treated with extracorporeal life support: relationship to primary diagnosis. *J Pediatr* 2000; 136(3):338-44.

349. Novak Z, Kovacs L, Pal A, Pataki L, Varga S, Matkovics B. Comparative study of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in cord and maternal red blood cells. *Acta Paediatr Hung* 1990; 30(3-4):391-7.

350. Nunes A, Melo F, Silva JE, Costa A, Bispo MA, Palminha JM. [Importance of J. Brazy's neurobiological index. Prediction of the number and severity of complications

in very low birth weight infants]. *Acta Med Port* 1998; 11(7):615-21.

351. O'Brien F, Roth S, Stewart A, Rifkin L, Rushe T, Wyatt J. The neurodevelopmental progress of infants less than 33 weeks into adolescence. *Arch Dis Child* 2004; 89(3):207-11.

352. Ochoa JJ, Ramirez-Tortosa MC, Quiles JL *et al.* Oxidative stress in erythrocytes from premature and full-term infants during their first 72 h of life. *Free Radic Res* 2003; 37(3):317-22.

353. Oh W. Neonatal polycythemia and hyperviscosity. *Pediatr Clin North Am* 1986; 33(3):523-32.

354. Oh W, Arcilla RA, 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(1):76-92.

355. Oh W, Lind J. Venous and capillary hematocrit in newborn infants and placental transfusion. *Acta Paediatr Scand* 1966; 55(1):38-48.

356. Oh W, Lind J. Body temperature of the newborn infant in relation to placental transfusion. *Acta Paediatr Scand* 1967; Suppl 172:135+.

357. Oh W, Lind J, Gessner IH. The circulatory and respiratory adaptation to early and late cord clamping in newborn infants. *Acta Paediatr Scand* 1966; 55(1):17-25.

358. Oh W, Wallgren G, Hanson JS, Lind J. The effects of placental transfusion on respiratory mechanics of normal term newborn infants. *Pediatrics* 1967; 40(1):6-12.

359. Ohls RK, Ehrenkranz RA, Das A *et al.* Neurodevelopmental outcome and growth at 18 to 22 months' corrected age in extremely low birth weight infants treated with early erythropoietin and iron. *Pediatrics* 2004; 114(5):1287-91. Notes: CORPORATE NAME: National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network

360. Okatani Y, Wakatsuki A, Kaneda C. Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *J Pineal Res* 2000; 28(2):89-96.

361. Okur H, Kucukaydin M, Kose K, Kontas O, Dogam P, Kazez A. Hypoxia-induced necrotizing enterocolitis in the immature rat: the role of lipid peroxidation and management by vitamin E. *J Pediatr Surg* 1995; 30(10):1416-9.

362. Orhan H, Onderoglu L, Yucel A, Sahin G. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 267(4):189-95.

363. Ornoy A, Wolf A, Ratzon N, Greenbaum C, Dulitzky M. Neurodevelopmental outcome at early school age of children born to mothers with gestational diabetes. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1999; 81(1):F10-4.

364. Orrenius S, McConkey DJ, Bellomo G, Nicotera P. Role of Ca²⁺ in toxic cell killing. *Trends Pharmacol Sci* 1989; 10(7):281-5.

365. Orvig C, Thompson KH, Battell M, McNeill JH. Vanadium compounds as insulin mimics. *Met Ions Biol Syst* 1995; 31:575-94.
366. Osborn DA. Thyroid hormone for preventing of neurodevelopmental impairment in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (2):CD001070.
367. Palmer FB. Strategies for the early diagnosis of cerebral palsy. *J Pediatr* 2004; 145(2 Suppl):S8-S11.
368. Paneth N. Does transient hypothyroxinemia cause abnormal neurodevelopment in premature infants? *Clin Perinatol* 1998; 25(3):627-43.
369. Papagno L. Umbilical cord clamping. An analysis of a usual neonatological conduct. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 1998; 48(4):224-7.
370. Parisi P, Francia A, Vanacore N, Fiore S, Giallonardo AT, Manfredi M. Psychomotor development and general movements in offspring of women with epilepsy and anticonvulsant therapy. *Early Hum Dev* 2003; 74(2):97-108.
371. Pasma JW, Rotteveel JJ, Maassen B. Neurodevelopmental profile in low-risk preterm infants at 5 years of age. *Eur J Paediatr Neurol* 1998; 2(1):7-17.
372. Paul DA, Leef KH, Stefano JL, Bartoshesky L. Low serum thyroxine on initial newborn screening is associated with intraventricular hemorrhage and death in very low birth weight infants. *Pediatrics* 1998; 101(5):903-7.
373. Pauly TH, Smith M, Gillespie M. Bilirubin as an antioxidant: effect on group B streptococci-induced pulmonary hypertension in infant piglets. *Biol Neonate* 1991; 60(5):320-6.
374. Paz I, Gale R, Laor A, Danon YL, Stevenson DK, Seidman DS. The cognitive outcome of full-term small for gestational age infants at late adolescence. *Obstet Gynecol* 1995; 85(3):452-6.
375. Peltonen T. Placental transfusion--advantage an disadvantage. *Eur J Pediatr* 1981; 137(2):141-6.
376. Perez-Escamilla R, Pollitt E, Lonnerdal B, Dewey KG. Infant feeding policies in maternity wards and their effect on breast-feeding success: an analytical overview. *Am J Public Health* 1994; 84(1):89-97.
377. Peuchant E, Brun JL, Rigalleau V *et al.* Oxidative and antioxidative status in pregnant women with either gestational or type 1 diabetes. *Clin Biochem* 2004; 37(4):293-8.
378. Phylactos AC, Ghebremeskel K, Costeloe K, Leaf AA, Harbige LS, Crawford MA. Polyunsaturated fatty acids and antioxidants in early development. Possible prevention of oxygen-induced disorders. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48 Suppl 2:S17-23.
379. Phylactos AC, Leaf AA, Costeloe K, Crawford MA. Erythrocyte cupric/zinc superoxide dismutase exhibits reduced activity in preterm and low-birthweight infants at birth. *Acta Paediatr* 1995; 84(12):1421-5.

380. Pierce MR, Bancalari E. The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Pulmonol* 1995; 19(6):371-8.
381. Pieri C, Marra M, Moroni F, Recchioni R, Marcheselli F. Melatonin: a peroxy radical scavenger more effective than vitamin E. *Life Sci* 1994; 55(15):PL271-6.
382. Pietra GG, D'Amodio MD, Leventhal MM, Oh W, Braudo JL. Electron microscopy of cutaneous capillaries of newborn infants: effects of placental transfusion. *Pediatrics* 1968; 42(4):678-83.
383. Pinelli J, Saigal S, Atkinson SA. Effect of breastmilk consumption on neurodevelopmental outcomes at 6 and 12 months of age in VLBW infants. *Adv Neonatal Care* 2003; 3(2):76-87.
384. 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 (Sao Paulo)* 1970; 29(2):175-201.
385. Piquard F, Schaefer A, Dellenbach P, Haberey P. Is fetal acidosis in the human fetus maternogenic during labor? A reanalysis. *Am J Physiol* 1991; 261(5 Pt 2):R1294-9.
386. Pita ML, Giron MD, Perez-Ayala M, DeLucchi C, Martinez Valverde A, Gil A. Effects of postnatal age and diet on the fatty acid composition of plasma lipid fractions in preterm infants. *Clin Physiol Biochem* 1989; 7(5):238-48.
387. Pita ML, Morales J, Sanchez-Pozo A, Martinez-Valverde JA, Gil A. Influence of the mother's weight and socioeconomic status on the fatty acid composition of human milk. *Ann Nutr Metab* 1985; 29(6):366-73.
388. Place I, Englert Y. A prospective longitudinal study of the physical, psychomotor, and intellectual development of singleton children up to 5 years who were conceived by intracytoplasmic sperm injection compared with children conceived spontaneously and by in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 80(6):1388-97.
389. Poderoso JJ, Carreras MC, Lisdero C, Riobo N, Schopfer F, Boveris A. Nitric oxide inhibits electron transfer and increases superoxide radical production in rat heart mitochondria and submitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys* 1996; 328(1):85-92.
390. Poderoso JJ, Peralta JG, Lisdero CL *et al.* Nitric oxide regulates oxygen uptake and hydrogen peroxide release by the isolated beating rat heart. *Am J Physiol* 1998; 274(1 Pt 1):C112-9.
391. Pribylova H, Cort RL. [Placental transfusion and adaptation mechanisms of the newborn in the first days after birth]. *Cesk Pediatr* 1968; 23(7):594-8.
392. Prodanovic Z, Vucicevic G, Ostojic B, Doronjski A, Dobric L, Dovijarski M. [Psychomotor development in children born with anoxia--perinatal risk factors]. *Med Pregl* 1991; 44(9-10):434-7.
393. Pryor WA, Porter NA. Suggested mechanisms for the production of 4-hydroxy-2-

nonenal from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. *Free Radic Biol Med* 1990; 8(6):541-3.

394. Pyska W, Klejewski A, Karolkiewicz J, Szczesniak L, Szczesniak-Chmielecka A, Nowak A. [Imbalance of pro-oxidants-antioxidants in blood of pregnant women with pregnancy induced hypertension]. *Ginekol Pol* 2002; 73(1):14-8.

395. Rabe H, Reynolds G, Diaz-Rossello J. Early versus delayed umbilical cord clamping in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2004; (4):CD003248.

396. Rabe H, Wacker A, Hulskamp G *et al.* A randomised controlled trial of delayed cord clamping in very low birth weight preterm infants. *Eur J Pediatr* 2000; 159(10):775-7.

397. Rabe H, Wacker A, Hulskamp G *et al.* A randomised controlled trial of delayed cord clamping in very low birth weight preterm infants. *Eur J Pediatr* 2000; 159(10):775-7.

398. Rabi Y, Rabi D, Yee W. Room air resuscitation of the depressed newborn: A systematic review and meta-analysis. *Resuscitation* 2007; 72(3):353-63.

399. Radetti G, Gentili L, Paganini C, Oberhofer R, Deluggi I, Delucca A. Psychomotor and audiological assessment of infants born to mothers with subclinical thyroid dysfunction in early pregnancy. *Minerva Pediatr* 2000; 52(12):691-8.

400. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J Biol Chem* 1991; 266(7):4244-50.

401. Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation: the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch Biochem Biophys* 1991; 288(2):481-7.

402. 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(4):322-8.

403. Rankin JH, McLaughlin MK. The regulation of the placental blood flows. *J Dev Physiol* 1979; 1(1):3-30.

404. Rasheed A, Tindall S, Cueny DL, Klein MD, Delaney-Black V. Neurodevelopmental outcome after congenital diaphragmatic hernia: Extracorporeal membrane oxygenation before and after surgery. *J Pediatr Surg* 2001; 36(4):539-44.

405. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180(2 Pt 1):499-506.

406. REDMOND A, ISANA S, INGALL D. RELATION OF ONSET OF RESPIRATION TO PLACENTAL TRANSFUSION. *Lancet* 1965; 17:283-5.

407. Rehan VK, Moddemann D, Casiro OG. Outcome of very-low-birth-weight (< 1,500 grams) infants born to mothers with diabetes. *Clin Pediatr (Phila)* 2002;

41(7):481-91.

408. Reid GM, Tervit H. Sudden infant death syndrome: oxidative stress. *Med Hypotheses* 1999; 52(6):577-80.

409. Reinhart WH, Danoff SJ, King RG, Chien S. Rheology of fetal and maternal blood. *Pediatr Res* 1985; 19(1):147-53.

410. Reiter RJ. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev* 1991; 12(2):151-80.

411. Revenis ME, Kaliner MA. Lactoferrin and lysozyme deficiency in airway secretions: association with the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1992; 121(2):262-70.

412. Reyes Baez G, Gonzalez AR, Gomez Raspaldo G, Blasini I, Rivera CE. Comparative study of the effectiveness of thyroxine and steroids on reduction of neonatal morbidity: outcome at 20 months follow-up. *P R Health Sci J* 2004; 23(1):9-12.

413. REYNOLDS SR. Circulatory adaptations to birth and their clinical implications. *Am J Obstet Gynecol* 1955; 70(1):148-61.

414. REYNOLDS SR. Circulatory adaptations at birth; physiologic and morphologic correlations. *N Y State J Med* 1956; 56(11):1809-16.

415. Richter C, Park JW, Ames BN. Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85(17):6465-7.

416. 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(3):449-53.

417. Ripalda MJ, Rudolph N, Wong SL. Developmental patterns of antioxidant defense mechanisms in human erythrocytes. *Pediatr Res* 1989; 26(4):366-9.

418. Rivera LM, Rudolph N. Postnatal persistence of capillary-venous differences in hematocrit and hemoglobin values in low-birth-weight and term infants. *Pediatrics* 1982; 70(6):956-7.

419. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet* 2001; 357(9249):53-6.

420. Roberts JM, Lain KY. Obstetrics. Preterm birth and pre-eclampsia--bad news and good news. *Lancet* 1998; 352 Suppl 4:SIV22.

421. Roberts LJ 2nd, Morrow JD. The isoprostanes: novel markers of lipid peroxidation and potential mediators of oxidant injury. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 1995; 23:219-24.

422. Roche E, Romero-Alvira D. [Changes in DNA induced by oxidative stress]. *Med Clin (Barc)* 1996; 106(4):144-53.

423. Rodrigo R, Parra M, Bosco C *et al.* Pathophysiological basis for the prophylaxis of preeclampsia through early supplementation with antioxidant vitamins. *Pharmacol Ther* 2005; 107(2):177-97.
424. Roelofsen B, van Meer G, Op den Kamp JA. The lipids of red cell membranes. Compositional, structural and functional aspects. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1981; 156:111-5.
425. Rogers MS, Mongelli JM, Tsang KH, Wang CC, Law KP. Lipid peroxidation in cord blood at birth: the effect of labour. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105(7):739-44.
426. Romero R, Baumann P, Gomez R *et al.* The relationship between spontaneous rupture of membranes, labor, and microbial invasion of the amniotic cavity and amniotic fluid concentrations of prostaglandins and thromboxane B2 in term pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 168(6 Pt 1):1654-64; discussion 1664-8.
427. Romero R, Mazor M, Wu YK, Avila C, Oyarzun E, Mitchell MD. Bacterial endotoxin and tumor necrosis factor stimulate prostaglandin production by human decidua. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1989; 37(3):183-6.
428. Romero R, Mazor M, Wu YK, Avila C, Oyarzun E, Mitchell MD. Bacterial endotoxin and tumor necrosis factor stimulate prostaglandin production by human decidua. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1989; 37(3):183-6.
429. Roth S, Wyatt J, Baudin J *et al.* Neurodevelopmental status at 1 year predicts neuropsychiatric outcome at 14-15 years of age in very preterm infants. *Early Hum Dev* 2001; 65(2):81-9.
430. RUCKER MP. Late ligation of the umbilical cord. *Am J Obstet Gynecol* 1949; 58(6):1117-9.
431. Ruiz-Extremera A, Robles-Vizcaino C, Salvatierra-Cuenca MT *et al.* Neurodevelopment of neonates in neonatal intensive care units and growth of surviving infants at age 2 years. *Early Hum Dev* 2001; 65 Suppl:S119-32.
432. Rutherford MA, Pennock JM, Counsell SJ *et al.* Abnormal magnetic resonance signal in the internal capsule predicts poor neurodevelopmental outcome in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. *Pediatrics* 1998; 102(2 Pt 1):323-8.
433. Ruyle M, Connor WE, Anderson GJ, Lowensohn RI. Placental transfer of essential fatty acids in humans: venous-arterial difference for docosahexaenoic acid in fetal umbilical erythrocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(20):7902-6.
434. Saigal S, O'Neill A, Surainder Y, Chua LB, Usher R. Placental transfusion and hyperbilirubinemia in the premature. *Pediatrics* 1972; 49(3):406-19.
435. Saigal S, Usher RH. Symptomatic neonatal plethora. *Biol Neonate* 1977; 32(1-2):62-72.
436. Saigal S, Wilson R, Usher R. Radiological findings in symptomatic neonatal plethora resulting from placental transfusion. *Radiology* 1977; 125(1):185-8.

437. Sajaniemi N, Salokorpi T, von Wendt L. Temperament profiles and their role in neurodevelopmental assessed preterm children at two years of age. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 1998; 7(3):145-52.
438. Samuni A, Aronovitch J, Godinger D, Chevion M, Czapski G. On the cytotoxicity of vitamin C and metal ions. A site-specific Fenton mechanism. *Eur J Biochem* 1983; 137(1-2):119-24.
439. Sandhagen B. Analysis of haemorheological variables--methodology and reference values. *Ups J Med Sci* 1989; 94(1):81-7.
440. Saran M, Bors W. Radical reactions in vivo--an overview. *Radiat Environ Biophys* 1990; 29(4):249-62.
441. Saran M, Bors W. Radical reactions in vivo--an overview. *Radiat Environ Biophys* 1990; 29(4):249-62.
442. Saugstad OD. Chronic lung disease: oxygen dogma revisited. *Acta Paediatr* 2001; 90(2):113-5.
443. Saugstad OD. Update on oxygen radical disease in neonatology. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001; 13(2):147-53.
444. Saugstad OD. Resuscitation of newborn infants with room air or oxygen. *Semin Neonatol* 2001; 6(3):233-9.
445. Scaiano JC. Exploratory laser flash photolysis study of free radical reactions and magnetic field effects in melatonin chemistry. *J Pineal Res* 1995; 19(4):189-95.
446. Schell JD Jr, Budinsky RA, Wernke MJ. PCBs and neurodevelopmental effects in Michigan children: an evaluation of exposure and dose characterization. *Regul Toxicol Pharmacol* 2001; 33(3):300-12.
447. Scherjon S, Briet J, Oosting H, Kok J. The discrepancy between maturation of visual-evoked potentials and cognitive outcome at five years in very preterm infants with and without hemodynamic signs of fetal brain-sparing. *Pediatrics* 2000; 105(2):385-91.
448. Schneider AP 2nd. Breast milk jaundice in the newborn. A real entity. *JAMA* 1986; 255(23):3270-4.
449. Schnitzer E, Pinchuk I, Bor A, Fainaru M, Lichtenberg D. The effect of albumin on copper-induced LDL oxidation. *Biochim Biophys Acta* 1997; 1344(3):300-11.
450. Schnitzer E, Pinchuk I, Bor A, Fainaru M, Samuni AM, Lichtenberg D. Lipid oxidation in unfractionated serum and plasma. *Chem Phys Lipids* 1998; 92(2):151-70.
451. Schnitzer E, Pinchuk I, Bor A, Leikin-Frenkel A, Lichtenberg D. Oxidation of liposomal cholesterol and its effect on phospholipid peroxidation. *Chem Phys Lipids* 2007; 146(1):43-53.
452. Schreuder AM, McDonnell M, Gaffney G, Johnson A, Hope PL. Outcome at

school age following antenatal detection of absent or reversed end diastolic flow velocity in the umbilical artery. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2002; 86(2):F108-14.

453. Sevanian A, Davies KJ, Hochstein P. Conservation of vitamin C by uric acid in blood. *J Free Radic Biol Med* 1985; 1(2):117-24.

454. Sevanian A, Hodis HN, Hwang J, McLeod LL, Peterson H. Characterization of endothelial cell injury by cholesterol oxidation products found in oxidized LDL. *J Lipid Res* 1995; 36(9):1971-86.

455. Shohat M, Merlob P, Reisner SH. Neonatal polycythemia: I. Early diagnosis and incidence relating to time of sampling. *Pediatrics* 1984; 73(1):7-10.

456. Sibille Y, Lwebuga-Mukasa JS, Polomski L, Merrill WW, Ingbar DH, Gee JB. An in vitro model for polymorphonuclear-leukocyte-induced injury to an extracellular matrix. Relative contribution of oxidants and elastase to fibronectin release from amnionic membranes. *Am Rev Respir Dis* 1986; 134(1):134-40.

457. Simko M, Blazicek P, Holoman K *et al.* [Changes in serum levels of lipid peroxidation products during labor and in the puerperium]. *Ceska Gynekol* 2002; 67(1):15-9.

458. Simmer K. Longchain polyunsaturated fatty acid supplementation in infants born at term. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; (2):CD000376.

459. SISSON TR, 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(2):163-79.

460. Sladek SM, Kanbour-Shakir A, Watkins S, Berghorn KA, Hoffman GE, Roberts JM. Granulated metrial gland cells contain nitric oxide synthases during pregnancy in the rat. *Placenta* 1998; 19(1):55-65.

461. Slater TF, Riley PA. Free-radical damage in retrolental fibroplasia. *Lancet* 1970; 2(7670):467.

462. Smit BJ, Kok JH, de Vries LS, van Wassenaer AG, Dekker FW, Ongerboer de Visser BW. Motor nerve conduction velocity in very preterm infants in relation to L-thyroxine supplementation. *J Pediatr* 1998; 132(1):64-9.

463. Smith PF, Hoke GD, Alberts DW *et al.* Mechanism of toxicity of an experimental bidentate phosphine gold complexed antineoplastic agent in isolated rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 249(3):944-50.

464. Smoly JM, Kuylenstierna B, Ernster L. Topological and functional organization of the mitochondrion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1970; 66(1):125-31.

465. Sobki SH, Al-Senaigy AM, Al-Shammari TA, Inam SS, Al-Gwiser AA, Bukhari SA. Impact of gestational diabetes on lipid profiling and indices of oxidative stress in maternal and cord plasma. *Saudi Med J* 2004; 25(7):876-80.

466. Spears RL, Anderson GV, Brotman S *et al.* The effect of early versus late cord clamping on signs of respiratory distress. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 95(4):564-8.

467. Spinillo A, Fazzi E, Orcesi S, Accorsi P, Beccaria F, Capuzzo E. Perinatal factors and 2-year minor neurodevelopmental impairment in low birth weight infants. *Biol Neonate* 1995; 67(1):39-46.
468. Stattin H, Klackenber-Larsson I. Early language and intelligence development and their relationship to future criminal behavior. *J Abnorm Psychol* 1993; 102(3):369-78.
469. Stave U. [Neurodevelopmental examination of high risk infants (author's transl)]. *Monatsschr Kinderheilkd* 1979; 127(10):621-7.
470. Steiner H, Zahradnik HP, Hillemanns HG, Breckwoldt M. [Treatment of delayed labour with prostaglandin E2 (author's transl)]. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1977; 37(6):495-9.
471. STIEHM ER, RYAN J. BREAST-MILK JAUNDICE. REPORT OF EIGHT CASES AND EFFECT OF BREAST FEEDING ON INCIDENCE AND SEVERITY OF UNEXPLAINED HYPERBILIRUBINEMIA. *Am J Dis Child* 1965; 109:212-6.
472. Storr-Paulsen A, Norregaard JC, Farik G, Tarnhoj J. The influence of viscoelastic substances on the corneal endothelial cell population during cataract surgery: a prospective study of cohesive and dispersive viscoelastics. *Acta Ophthalmol Scand* 2007; 85(2):183-7.
473. Stuart B, Drumm J, FitzGerald DE, Duignan NM. Fetal blood velocity waveforms in normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1980; 87(9):780-5.
474. Stubbe J. Ribonucleotide reductases. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1990; 63:349-419.
475. Sullivan JL, Newton RB. Serum antioxidant activity in neonates. *Arch Dis Child* 1988; 63(7 Spec No):748-50.
476. Suresh GK, Davis JM, Soll RF. Superoxide dismutase for preventing chronic lung disease in mechanically ventilated preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2001; (1):CD001968.
477. Svenningsen NW, Lindroth M, Lindquist B. A comparative study of varying protein intake in low birthweight infant feeding. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1982; 296:28-31.
478. Synnes AR. Use of the laboratory in prediction of outcome in the high-risk newborn. *Clin Chem* 1997; 43(1):243-8.
479. Takehara Y, Yoshioka T, Sasaki J. Changes in the levels of lipoperoxide and antioxidant factors in human placenta during gestation. *Acta Med Okayama* 1990; 44(2):103-11.
480. Takikawa M, Kato S, Esumi H *et al.* Temporospatial relationship between the expressions of superoxide dismutase and nitric oxide synthase in the developing human brain: immunohistochemical and immunoblotting analyses. *Acta Neuropathol (Berl)* 2001; 102(6):572-80.

481. Takser L, Mergler D, Hellier G, Sahuquillo J, Huel G. Manganese, monoamine metabolite levels at birth, and child psychomotor development. *Neurotoxicology* 2003; 24(4-5):667-74.
482. Tan DX, Poeggeler B, Reiter RJ *et al.* The pineal hormone melatonin inhibits DNA-adduct formation induced by the chemical carcinogen safrole in vivo. *Cancer Lett* 1993; 70(1-2):65-71.
483. Tang N, He M, O'Riordan MA *et al.* Ethanol inhibits L1 cell adhesion molecule activation of mitogen-activated protein kinases. *J Neurochem* 2006; 96(5):1480-90.
484. Tanswell AK, Freeman BA. Pulmonary antioxidant enzyme maturation in the fetal and neonatal rat. I. Developmental profiles. *Pediatr Res* 1984; 18(7):584-7.
485. Tanswell AK, Freeman BA. Pulmonary antioxidant enzyme maturation in the fetal and neonatal rat. II. The influence of maternal iron supplements upon fetal lung catalase activity. *Pediatr Res* 1984; 18(9):871-4.
486. Tappel AL. Will antioxidant nutrients slow aging processes? *Geriatrics* 1968; 23(10):97-105.
487. Tastekin A, Ors R, Demircan B, Saricam Z, Ingec M, Akcay F. Oxidative stress in infants born to preeclamptic mothers. *Pediatr Int* 2005; 47(6):658-62.
488. 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; 5:299-318.
489. Taylor RN, Musci TJ, Kuhn RW, Roberts JM. Partial characterization of a novel growth factor from the blood of women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70(5):1285-91.
490. Temma K, Shimoya K, Zhang Q *et al.* Effects of 4-hydroxy-2-nonenal, a marker of oxidative stress, on the cyclooxygenase-2 of human placenta in chorioamnionitis. *Mol Hum Reprod* 2004; 10(3):167-71.
491. Theorell K, Prechtl HF, Blair AW, Lind J. Behavioural state cycles of normal newborn infants. A comparison of the effects of early and late cord clamping. *Dev Med Child Neurol* 1973; 15(5):597-605.
492. Thornalley P, Wolff S, Crabbe J, Stern A. The autoxidation of glyceraldehyde and other simple monosaccharides under physiological conditions catalysed by buffer ions. *Biochim Biophys Acta* 1984; 797(2):276-87.
493. Thurston GB. Plasma release-cell layering theory for blood flow. *Biorheology* 1989; 26(2):199-214.
494. 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(3):151-3.

495. Torbati D, Wafapoor H, Peyman GA. Hyperbaric oxygen tolerance in newborn mammals--hypothesis on mechanisms and outcome. *Free Radic Biol Med* 1993; 14(6):695-703.
496. Toyoshima K, Narahara H, Furukawa M, Frenkel RA, Johnston JM. Platelet-activating factor. Role in fetal lung development and relationship to normal and premature labor. *Clin Perinatol* 1995; 22(2):263-80.
497. Traystman RJ, Kirsch JR, Koehler RC. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol* 1991; 71(4):1185-95.
498. Turrens JF. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Biosci Rep* 1997; 17(1):3-8.
499. Turrens JF, Alexandre A, Lehninger AL. Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 1985; 237(2):408-14.
500. Turrens JF, Beconi M, Barilla J, Chavez UB, McCord JM. Mitochondrial generation of oxygen radicals during reoxygenation of ischemic tissues. *Free Radic Res Commun* 1991; 12-13 Pt 2:681-9.
501. Uhlig S, Wendel A. The physiological consequences of glutathione variations. *Life Sci* 1992; 51(14):1083-94.
502. Ursini F, Maiorino M, Valente M, Ferri L, Gregolin C. Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. *Biochim Biophys Acta* 1982; 710(2):197-211.
503. USHER R, SHEPHARD M, LIND J. THE BLOOD VOLUME OF THE NEWBORN INFANT AND PLACENTAL TRANSFUSION. *Acta Paediatr* 1963; 52:497-512.
504. Valle VG, Fagian MM, Parentoni LS, Meinicke AR, Vercesi AE. The participation of reactive oxygen species and protein thiols in the mechanism of mitochondrial inner membrane permeabilization by calcium plus prooxidants. *Arch Biochem Biophys* 1993; 307(1):1-7.
505. 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(1):3-16.
506. van Rheenen PF, Gruschke S, Brabin BJ. Delayed umbilical cord clamping for reducing anaemia in low birthweight infants: implications for developing countries. *Ann Trop Paediatr* 2006; 26(3):157-67.
507. van Wassenaer AG, Briet JM, van Baar A *et al*. Free thyroxine levels during the first weeks of life and neurodevelopmental outcome until the age of 5 years in very preterm infants. *Pediatrics* 2002; 110(3):534-9.
508. Van Wassenaer AG, Kok JH, Briet JM, Pijning AM, de Vijlder JJ. Thyroid

function in very preterm newborns: possible implications. *Thyroid* 1999; 9(1):85-91.

509. van Zandwijk N. N-acetylcysteine (NAC) and glutathione (GSH): antioxidant and chemopreventive properties, with special reference to lung cancer. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 22:24-32.

510. van Zoeren-Grobbe D, Lindeman JH, Houdkamp E, Brand R, Schrijver J, Berger HM. Postnatal changes in plasma chain-breaking antioxidants in healthy preterm infants fed formula and/or human milk. *Am J Clin Nutr* 1994; 60(6):900-6.

511. Varsila E, Pitkanen O, Hallman M, Andersson S. Immaturity-dependent free radical activity in premature infants. *Pediatr Res* 1994; 36(1 Pt 1):55-9.

512. Vatansever U, Acunas B, Demir M *et al.* Nucleated red blood cell counts and erythropoietin levels in high-risk neonates. *Pediatr Int* 2002; 44(6):590-5.

513. Voigt RG, Jensen CL, Fraley JK, Rozelle JC, Brown FR 3rd, Heird WC. Relationship between omega3 long-chain polyunsaturated fatty acid status during early infancy and neurodevelopmental status at 1 year of age. *J Hum Nutr Diet* 2002; 15(2):111-20.

514. Vollmer B, Roth S, Riley K *et al.* Long-term neurodevelopmental outcome of preterm children with unilateral cerebral lesions diagnosed by neonatal ultrasound. *Early Hum Dev* 2006; 82(10):655-61.

515. von Dadelszen P, Magee LA, Lee SK *et al.* Activated protein C in normal human pregnancy and pregnancies complicated by severe preeclampsia: a therapeutic opportunity? *Crit Care Med* 2002; 30(8):1883-92.

516. Vossbeck S, de Camargo OK, Grab D, Bode H, Pohlandt F. Neonatal and neurodevelopmental outcome in infants born before 30 weeks of gestation with absent or reversed end-diastolic flow velocities in the umbilical artery. *Eur J Pediatr* 2001; 160(2):128-34.

517. Vossler MR, Coco A, Strausser BT, Zaricznyj C, Macara IG. Tyrosyl and phosphatidylinositol kinases of human erythrocyte membranes. *J Cell Biochem* 1987; 33(4):225-35.

518. Wainwright MS, Mannix MK, Brown J, Stumpf DA. L-carnitine reduces brain injury after hypoxia-ischemia in newborn rats. *Pediatr Res* 2003; 54(5):688-95.

519. WALLGREN G, KARLBERG P, LIND J. Studies of the circulatory adaptation immediately after birth. *Acta Paediatr* 1960; 49:843-9.

520. Walsh SW, Wang Y, Jesse R. Peroxide induces vasoconstriction in the human placenta by stimulating thromboxane. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169(4):1007-12.

521. Wang P, Zweier JL. Measurement of nitric oxide and peroxynitrite generation in the postischemic heart. Evidence for peroxynitrite-mediated reperfusion injury. *J Biol Chem* 1996; 271(46):29223-30.

522. Wang Z, Ciabattini G, Creminon C *et al.* Immunological characterization of

urinary 8-epi-prostaglandin F2 alpha excretion in man. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275(1):94-100.

523. Ward JA, Roberts RJ. Hyperoxia effects on pulmonary pressure: volume characteristics and lavage surfactant phospholipid in the newborn rabbit. *Biol Neonate* 1984; 46(3):139-48.

524. Ward MJ, Pauliny J, Lipper EG, Bussel JB. Long-term effects of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia and its antenatal treatment on the medical and developmental outcomes of affected children. *Am J Perinatol* 2006; 23(8):487-92.

525. Wardrop CA, Holland BM. The roles and vital importance of placental blood to the newborn infant. *J Perinat Med* 1995; 23(1-2):139-43.

526. Warshaw JB, Wilson CW 3rd, Saito K, Prough RA. The responses of glutathione and antioxidant enzymes to hyperoxia in developing lung. *Pediatr Res* 1985; 19(8):819-23.

527. Watchko JF, Oski FA. Kernicterus in preterm newborns: past, present, and future. *Pediatrics* 1992; 90(5):707-15.

528. Weinberger B, Watorek K, Strauss R, Witz G, Hiatt M, Hegyi T. Association of lipid peroxidation with hepatocellular injury in preterm infants. *Crit Care* 2002; 6(6):521-5.

529. Weiner CP, Knowles RG, Moncada S. Induction of nitric oxide synthases early in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171(3):838-43.

530. Wennberg RP, Ahlfors CE, Bickers R, McMurtry CA, Shetter JL. Abnormal auditory brainstem response in a newborn infant with hyperbilirubinemia: improvement with exchange transfusion. *J Pediatr* 1982; 100(4):624-6.

531. Wetterberg L. Melatonin in humans physiological and clinical studies. *J Neural Transm Suppl* 1978; (13):289-310.

532. Wiedemann M, Kontush A, Finckh B, Hellwege HH, Kohlschutter A. Neonatal blood plasma is less susceptible to oxidation than adult plasma owing to its higher content of bilirubin and lower content of oxidizable Fatty acids. *Pediatr Res* 2003; 53(5):843-9.

533. Wildschut J, Feron FJ, Hendriksen JG *et al.* Acid-base status at birth, spontaneous motor behaviour at term and 3 months and neurodevelopmental outcome at age 4 years in full-term infants. *Early Hum Dev* 2005; 81(6):535-44.

534. Wilson-Costello D, Friedman H, Minich N *et al.* Improved neurodevelopmental outcomes for extremely low birth weight infants in 2000-2002. *Pediatrics* 2007; 119(1):37-45.

535. Windle WF. Brain damage by asphyxia at birth. *Sci Am* 1969; 221(4):76-84.

536. Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. *Br Med Bull* 1993; 49(3):506-

22.

537. Winterbourn CC. Free radical toxicology and antioxidant defence. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995; 22(11):877-80.

538. Wirth FH, Goldberg KE, Lubchenco LO. Neonatal hyperviscosity: I. Incidence. *Pediatrics* 1979; 63(6):833-6.

539. Wolf MJ, Beunen G, Casaer P, Wolf B. Extreme hyperbilirubinaemia in Zimbabwean neonates: neurodevelopmental outcome at 4 months. *Eur J Pediatr* 1997; 156(10):803-7.

540. Wolf MJ, Beunen G, Casaer P, Wolf B. Neurological status in severely jaundiced Zimbabwean neonates. *J Trop Pediatr* 1998; 44(3):161-4.

541. Wolff SP, Dean RT. Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes. *Biochem J* 1987; 245(1):243-50.

542. Woods JR Jr. Reactive oxygen species and preterm premature rupture of membranes-a review. *Placenta* 2001; 22 Suppl A:S38-44.

543. Wuhl E, Kogan J, Zurowska A *et al.* Neurodevelopmental deficits in Pierson (microcoria-congenital nephrosis) syndrome. *Am J Med Genet A* 2007; 143(4):311-9.

544. Yaacobi N, Ohel G, Hochman A. Reactive oxygen species in the process of labor. *Arch Gynecol Obstet* 1999; 263(1-2):23-4.

545. Yallampalli C, Byam-Smith M, Nelson SO, Garfield RE. Steroid hormones modulate the production of nitric oxide and cGMP in the rat uterus. *Endocrinology* 1994; 134(4):1971-4.

546. Yao AC, Hirvensalo M, Lind J. Placental transfusion-rate and uterine contraction. *Lancet* 1968; 1(7539):380-3.

547. Yao AC, Lind J. Effect of gravity on placental transfusion. *Lancet* 1969; 2(7619):505-8.

548. 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(4):489-93.

549. 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(6):561-6.

550. Yao AC, Lind J, Vuorenkoski V. Expiratory grunting in the late clamped normal neonate. *Pediatrics* 1971; 48(6):865-70.

551. Yao AC, Moinian M, Lind J. Distribution of blood between infant and placenta after birth. *Lancet* 1969; 2(7626):871-3.

552. Yeo CL, Chan C. Motor development of very low birthweight infants with chronic lung disease - a comparative study. *Ann Acad Med Singapore* 2005; 34(7):411-6.

553. Yeomans ER, Hauth JC, Gilstrap LC 3rd, Strickland DM. Umbilical cord pH, PCO₂, and bicarbonate following uncomplicated term vaginal deliveries. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151(6):798-800.
554. Yin B, Zhen M. [Lipid peroxidation in plasma and the activity of superoxide dismutase (SOD) in pregnant women with premature rupture of membrane]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1995; 75(8):463-5, 509.
555. Yorbik O, Sayal A, Akay C, Akbiyik DI, Sohmen T. Investigation of antioxidant enzymes in children with autistic disorder. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2002; 67(5):341-3.
556. Yoshimitsu N, Douchi T, Yamasaki H, Nagata Y, Andoh T, Hatano H. Differences in umbilical cord serum lipid levels with mode of delivery. *Br J Obstet Gynaecol* 1999; 106(2):144-7.
557. Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135(3):372-6.
558. 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(5):733-42.
559. Zaken V, Kohen R, Ornoy A. Vitamins C and E improve rat embryonic antioxidant defense mechanism in diabetic culture medium. *Teratology* 2001; 64(1):33-44.
560. Ziegler JW, Ivy DD, Kinsella JP, Abman SH. The role of nitric oxide, endothelin, and prostaglandins in the transition of the pulmonary circulation. *Clin Perinatol* 1995; 22(2):387-403.
561. Zima T, Stipek S, Crkovska J, Doudova D, Mechurova A, Calda P. Activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase and glutathione peroxidase in fetal erythrocytes. *Prenat Diagn* 1996; 16(12):1083-5.
562. Zimmerman JJ. Bronchoalveolar inflammatory pathophysiology of bronchopulmonary dysplasia. *Clin Perinatol* 1995; 22(2):429-56.
563. Zoroglu SS, Yurekli M, Meram I *et al.* Pathophysiological role of nitric oxide and adrenomedullin in autism. *Cell Biochem Funct* 2003; 21(1):55-60.