



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

---

**Instituto Nacional de Perinatología  
Subdirección de Neonatología**

**“Caracterización del estrés oxidativo en prematuros con muy bajo peso al nacimiento según su velocidad de crecimiento en la fase hospitalaria”**

**Número de Autorización : 19031**

**T E S I S**

**Que para obtener el Título de:**

**ESPECIALISTA EN NEONATOLOGIA**

**PRESENTA**

**DR. MARTÍN ARTURO VARGAS NIETO**

**DR. LUIS A. FERNANDEZ CARROCERA  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION**

**DR. JOSÉ GUZMÁN BÁRCENAS  
DIRECTOR DE TESIS**



**MÉXICO, D. F. 2009**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AUTORIZACION DE TESIS**

Caracterización del estrés oxidativo en prematuros con muy bajo peso al nacimiento según su velocidad de crecimiento en la fase hospitalaria

---

**DR. JOSE JORGE ESPINOZA CAMPOS**  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

---

**DR. LUIS ALBERTO FERNANDEZ CARROCERA**  
PROFESOR TITULAR

---

**DR. JOSE GUZMÁN BÁRCENAS**  
DIRECTOR DE TESIS

## **AGRADECIMIENTOS**

**Agradezco a mis Padres que sin su apoyo y ejemplo no hubiera sido posible realizar un sueño que todos deseábamos y que ahora es realidad.**

**A Suzanne quien a lo largo de estos 7 años ha sabido comprender lo que implica la carrera y acompañarme en todos los momentos de felicidad, triunfos y tristezas. Sin su apoyo, amor y gran comprensión no hubiera llegado a lograr esto.**

**A toda mi familia**

**A mis maestros quienes aportaron la semilla de la duda para ir más allá e indagar las cosas.**

**Al Instituto Nacional de Perinatología como Alma Mater.**

## INDÍCE

---

Titulo	1
Autorización de tesis	2
Agradecimientos	3
Índice	4
Introducción	5
Síntesis del proyecto	6-8
Planteamiento del problema	9-11
Marco Teórico	12-18
Justificación	19-21
Objetivos / Hipótesis	22-23
Material y Métodos	24-35
Aspectos éticos	36
Organización / Recursos Humanos	37
Financiamiento	38
Resultados	39-46
Discusión	47-48
Conclusiones	49
Referencias Bibliográficas	50-53
Anexos	54-61

---

## **1. INTRODUCCIÓN**

El estrés oxidativo, es un estado de desequilibrio a favor de la formación de radicales libres en relación con la producción y/o aporte de antioxidantes. La inactivación de los diferentes tipos de defensa del sistema antioxidante en el recién nacido que se manifiesta en un incremento en la producción de radicales libres, se ha asociado con diferentes estados patológicos como displasia bronco pulmonar, retinopatía de la prematurez, persistencia del conducto arterioso, enterocolitis necrosante, hemorragia intracraneana, encefalopatía hipóxico – isquémica, entre otras. La desnutrición es una causa de estrés oxidativo de ahí que el pretérmino sea vulnerable. De la nutrición adecuada depende el crecimiento fetal normal y ésta es resultado de una compleja interacción entre tres compartimientos (materno, placentario y fetal). La síntesis materna y fetal de aminoácidos como el ácido glutámico, la glicina y la cistina son indispensables para la síntesis del amortiguador mas abundante del sistema oxido-reducción que es el *Glutathion* que se encuentra intra y extracelularmente en concentraciones milimolares. Por otro lado, la *Tioredoxina-reductasa* es una proteína de 120 aminoácidos que contiene. Aunque la cisteína es un aminoácido no esencial, requiere del aporte del aminoácido esencial metionina para su síntesis. El aporte de proteínas ricas en aminoácidos esenciales garantizan una fuente de aminoácidos para la síntesis de antioxidantes. El sistema de Glutathion (*Glutathion reductasa*) y la tioredoxina-reductasa son sistemas dependientes de cisteínas. De ahí que la importancia en el estado nutricional es un factor determinante para la homeostasis del sistema antioxidante. De ahí que el prematuro queda en desventaja frente al recién nacido de término ya que su sistema de defensa contra los radicales libres se encuentra inmaduro por la cantidad insuficiente de sustratos. En el prematuro se desconoce el grado de estrés oxidativo que puede ocasionar el aporte inadecuado de nutrimentos poder evitar la exposición a radicales libres, el presente trabajo presenta establecer un perfil oxidativo en el prematuro así como su evolución de acuerdo al aporte nutricional.

## **2. SÍNTESIS DEL PROYECTO**

### **Introducción**

La repercusión del estado nutricional en la sobrevida y condiciones críticas de salud en los prematuros con muy bajo peso al nacer pondera el estudio de los mecanismos moleculares adaptativos, siendo uno de los más importantes el estado oxidorreducción el cual interviene en mantener la homeostasis de los diferentes órganos afectados

### **Objetivo general**

Caracterizar el estrés oxidativo desde el nacimiento en prematuros de muy bajo peso al nacer hospitalizados en las unidades de cuidado especial neonatal en el Instituto Nacional de Perinatología.

### **Objetivos específicos**

1. Correlacionar las alteraciones en el patrón de crecimiento postnatal con las determinaciones del estrés oxidativo en prematuros de muy bajo peso al nacer durante la fase hospitalaria.
2. Comparar la incidencia y severidad de la morbilidad asociada al desequilibrio del estrés oxidativo en prematuros de muy bajo peso al nacer.

### **Hipótesis**

El desequilibrio oxidativo en la etapa neonatal promueve:

1. Una pérdida máxima de peso mayor al 10%, en las dos primeras semanas de vida
2. Una velocidad media de crecimiento, menor a 15 g / Kg /día /, a partir de la tercera semana de vida.
3. Incrementa en más del 25% la morbilidad neonatal

### **Material y métodos:**

Con un estudio de casos y controles anidado en una cohorte, prospectivo, longitudinal y analítico, se realizará la evaluación global del estado de nutrición, proponiendo el análisis y registro de mediciones antropométricas (peso, talla, y perímetro cefálico) e indicadores antropométricos (VMC de peso, talla y perímetro cefálico e índice ponderal). Se realizarán tomas de muestra sanguínea de cordón al nacimiento y posteriormente en su estancia para la evaluación del sistema antioxidante.

### **Evaluación antropométrica:**

Se registrará el peso diario y se determinará la velocidad de crecimiento semanalmente. La longitud supina y perímetro cefálico los cuales se registrarán por semana y se obtendrá la velocidad media de crecimiento mensual.

### **Evaluación bioquímica:**

Se obtendrán muestras séricas para evaluación del sistema antioxidante en los siguientes tiempos:

De sangre de cordón (en plasma), eritrocitos y leucocitos.

De sangre periférica (1 ml) en las siguientes fases de intervención nutricional:

1. Al alcanzar 120 kcal/día
2. Al egreso

De acuerdo a la evolución de los pacientes y para promover su comparación, se determinó por las siguientes características al grupo de estudio (caso):

1. Neonatos nacidos en el Instituto Nacional de Perinatología
2. RN con peso menor de 1500 g
3. Velocidad de crecimiento para peso,  $\leq$  al 15% posterior a los 28 días de vida
4. Peso al egreso < al percentil 10



Para considerar valor de referencia (control):

1. Neonatos nacidos en el Instituto Nacional de Perinatología
2. RN eutróficos con peso adecuado para edad gestacional
3. Hijos de madre sanas

### **Técnicas a desarrollar:**

Evaluación del sistema antioxidante y protección enzimática al determinar cantidades de proteína y actividad de Glutación, tioredoxina, Glutación reductasa y tioredoxina reductasa por técnicas colorimétricas.

### **Análisis de resultados:**

Se realizara análisis univariado, divariado y multivariado. El análisis univariado (estadística descriptiva) se calcularán frecuencias simples, porcentajes, así como medidas de tendencias central y dispersión (mediana y amplitud debido a que la muestra probamente no obtenga normalidad). Para el análisis divariado se calculara como medidas de asociación Riesgo relativo (RR) y su intervalo de confianza al 95%. Para efectos de comparación (variables cualitativas) la Chi cuadrada o prueba exacta de Fisher y para las variables cuantitativas se utilizara la prueba de U Mann –Whitney, estableciendo una significancia estadística  $< 0.05$ .

## 2.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El crecimiento apropiado del feto depende de factores genéticos, ambientales y nutrimentales. Un desequilibrio entre estos determinantes afecta el crecimiento manifestándose en un retraso morfológico. Un neonato prematuro con desnutrición no es la expresión reducida de un neonato normal, por lo contrario se diferencia de éste por dos aspectos fundamentales: en las proporciones relativas de distintos órganos y tejidos, lo que puede llamarse su patrón orgánico y en la composición química de su organismo (1). El bajo peso al nacer (menos de 2500g), está determinado por la edad gestacional menor a 37 semanas de gestación, y por un retardo en el crecimiento intrauterino (debajo del percentil 10<sup>o</sup> de acuerdo al estándar de referencia para el peso al nacer y la edad gestacional). La morbi - mortalidad en recién nacidos está inversamente relacionada con el peso al nacer y la edad gestacional, es decir a menor peso y menor edad gestacional, mayor riesgo de morbi-mortalidad, siendo que, hasta ahora se desconoce la intervención que sistema antioxidante puede jugar (2), Existen muchos factores que relacionan el retardo en el crecimiento intrauterino de una manera directa, como son:

- Sexo del producto
- Origen racial o étnico
- Talla materna
- Peso y la talla paternas
- Peso pregestacional materno
- Número de embarazos
- Antecedentes de embarazos de bajo peso
- Estado nutrimental e ingesta calórica
- Morbilidad materna crónica
- Adicciones como el tabaquismo, alcoholismo, entre otras.

Sin embargo no está definido que tanto puede afectar el estrés oxidativo al crecimiento in utero así como en el periodo neonatal. A pesar de que la sobrevida de los neonatos con peso muy bajo al nacimiento se ha incrementado durante las últimas dos décadas, la displasia broncopulmonar, retinopatía del prematuro, hemorragia intraventricular, enterocolitis necrosante continúan siendo problemas importantes. Se ha sugerido que el estrés oxidativo juega un rol importante en la fisiopatogénesis de estas enfermedades. (3) El estrés oxidativo es un fenómeno metabólico que se define como una situación de desequilibrio en el que hay una excesiva cantidad de radicales libres de oxígeno o especies de oxígeno reactivo presentes en el organismo debido a una inadecuada disponibilidad de sustancias neutralizantes llamadas antioxidantes los cuales destruyen estos productos lesivos, provenientes de procesos metabólicos.

Cuando una molécula tiene un número impar de electrones en su estructura atómica se le conoce como radical libre, en los cuales hay una inestabilidad relativa y consecuentemente son más reactivos que moléculas con electrones pares. Cuando un electrón es agregado a una molécula de oxígeno ( $O_2$ ) se convierte en una molécula superóxido ( $O_2^-$ ) el cual es un radical libre con electrón no apareado. Existen otras moléculas como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) el cual no es necesariamente un radical libre pero ciertamente también es muy reactivo. Ambas moléculas mencionadas son radicales libres y conocidas como especies reactivas de oxígeno. El  $H_2O_2$  es formado cuando el radical superóxido acepta otro electrón y 2 iones de hidrógenos ( $2H^+$ ), una reacción de  $H_2O_2$  con  $O_2^-$  resulta en la formación de un radical hidroxilo ( $OH^-$ ) el radical libre más tóxico en los sistemas biológicos. (4) En presencia de hipoxia isquémica, se genera hipoxantina del catabolismo del monofosfato de adenosina. Con la reperfusión en presencia del oxígeno la hipoxantina se oxida a ácido úrico con la generación de superóxido el cual puede reaccionar con el

peróxido de hidrógeno en presencia de hierro con la reacción de Haber Weiss (5) Los mecanismos de defensa antioxidante incluyen enzimas intra y extracelulares (catalasa, superóxido dismutasa, glutatión reductasa y peroxidasa ) y antioxidantes como glutatión vitamina C y E, albúmina, bilirrubina.. En humanos y en la mayor parte de los animales estudiados esas enzimas antioxidantes son expresadas en altas concentraciones solo al final de la gestación en preparación de un medio ambiente extrauterino con hiperoxia. De ahí que los neonatos pretérmino sean vulnerables al estrés oxidativo (3). Los neonatos con antecedentes perinatales de desnutrición crónica, presentan alteraciones inmunológicas con incremento en la susceptibilidad a infecciones en la etapa neonatal y un 20% de riesgo mayor de reingreso hospitalario en el primer año de vida. De igual manera se desconoce la magnitud del impacto del estrés oxidativo en el aspecto nutricional así como de crecimiento y desarrollo en el neonato (6).

En neonatos de muy bajo peso al nacer se exacerbaban las enfermedades adquiridas prolongando el daño en las fases de presentación aguda y a largo plazo hay una disminución de peso y longitud por debajo de 2 desviaciones estándar al egreso hospitalario en relación a los neonatos de término; composición corporal anormal por disminución en la acumulación de grasa y proteína son características de una desaceleración crónica del crecimiento en el primer año de vida. La repercusión del estado nutricional en la supervivencia y condiciones de salud en el transcurso de la vida de un neonato pretérmino de muy bajo peso al nacer pondera el estudio de los mecanismos moleculares que intervienen en mantener la homeostasis en los diferentes órganos de choque en la desnutrición aguda y los mecanismos moleculares adaptativos que intervienen en la desnutrición crónica durante el crecimiento y desarrollo del organismo.

### **2.3. Marco Teórico**

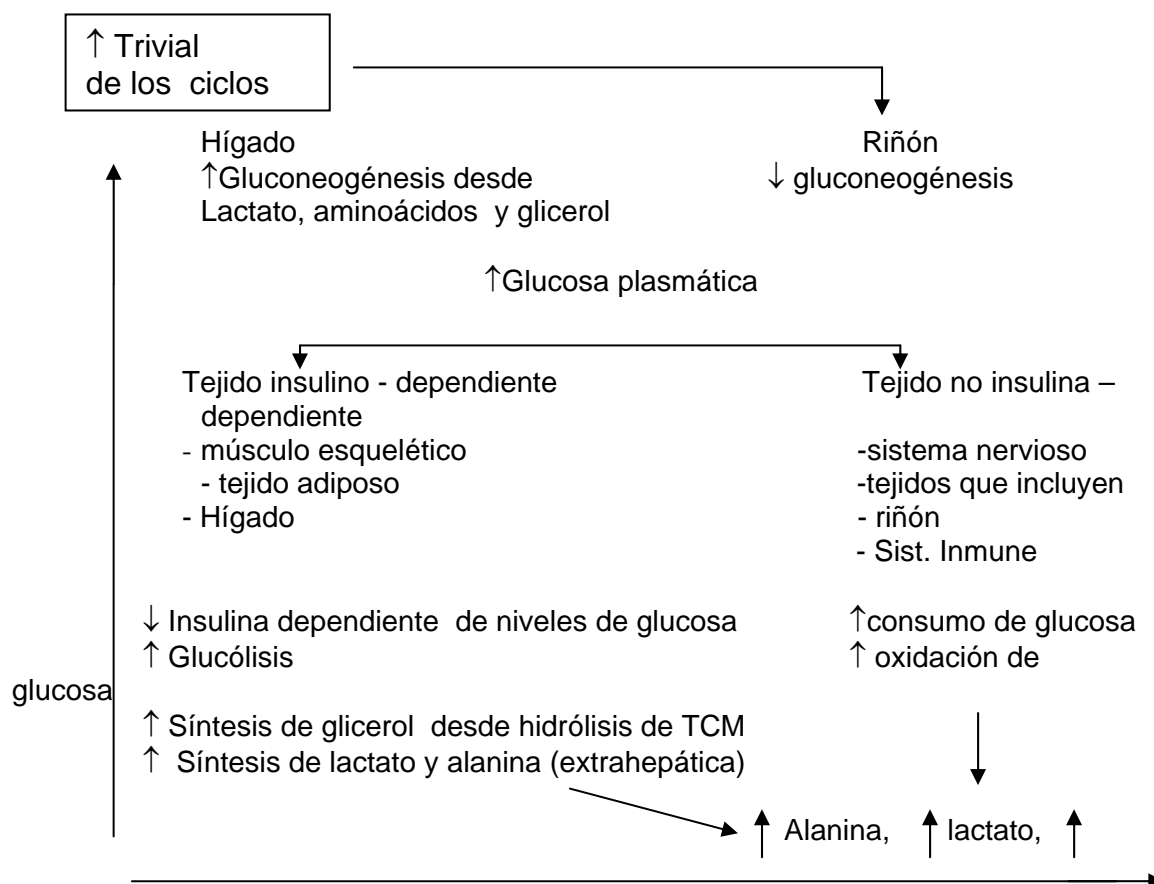
#### ***Bases metabólicas de la nutrición en pacientes críticamente enfermos***

Los pacientes en estado crítico tienen múltiples alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos (Figura 1), lípidos (Figura 2), proteínas (Figura 3) y ácidos nucleicos. Estos cambios se suceden por el incremento de las necesidades energéticas y un consecuente catabolismo proteico, el cual contribuye a las alteraciones del sistema inmunológico, del tracto intestinal y respiratorio. La fase de respuesta aguda al estrés esta encaminada a proveer energía para el mantenimiento del sistema nervioso y proveer de sustratos para la replicación celular y síntesis de proteínas, particularmente en tejido visceral (intestinal), hepático y células inmunológicas. Sin embargo, dependiendo de la intensidad y prolongación del periodo de estrés, existe una amplia depleción de las reservas que retarda la recuperación, la cual afecta la morbilidad y mortalidad en este grupo de pacientes (7).

Los cambios del metabolismo de la glucosa durante la fase crítica, incrementan la producción de la glucosa hepática y disminuyen la insulina con la finalidad de una utilización real del sustrato por los tejidos, no insulino – dependientes (principio de la hiperglucemia). El incremento de la glucólisis resulta en un incremento en la producción de piruvato que es utilizado por el sistema inmune, el tejido dañado, etc. El exceso de piruvato es reducido a lactato por la deshidrogenasa láctica y el lactato a su vez es utilizado en el hígado en el ciclo de Cori para la producción de glucosa. El piruvato también puede ser aminado en el músculo y en el hígado y producir alanina por la enzima, alanin-amino-transferasa.

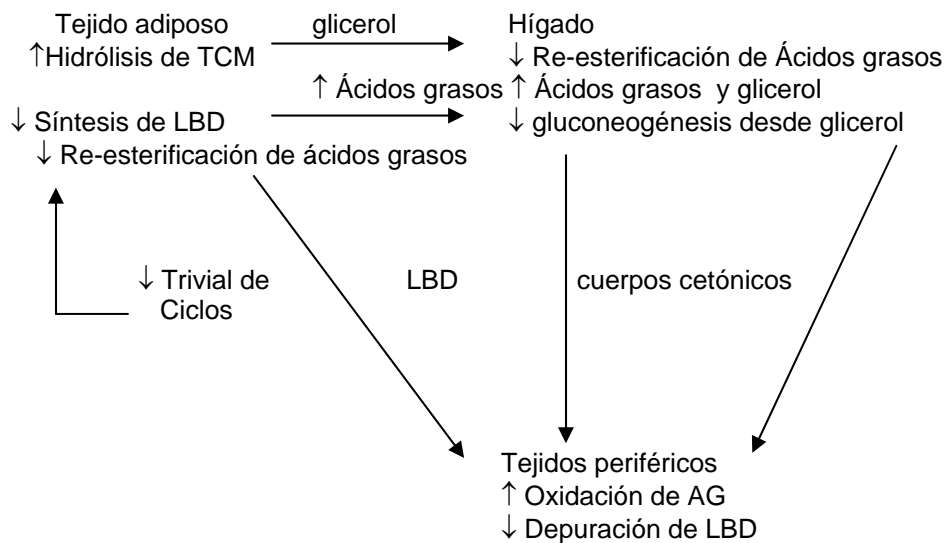
Por otro lado el glicerol derivado de una lipólisis acelerada es utilizado por el hígado como sustrato gluconeogénico (7).

**Fig. 1 Cambios del metabolismo de la glucosa durante la fase crítica**



Los cambios en el metabolismo de lípidos durante el proceso de daño agudo, representan una reserva para proporcionar energía cuando el soporte nutrimental es insuficiente. En el tejido adiposo, los triglicéridos de cadena media son hidrolizados con un alto promedio de liberación en ácidos grasos y glicerol a la circulación sistémica. El aumento en la oxidación de ácidos grasos por los tejidos periféricos incrementa importantemente el aporte de energía. En el hígado una proporción importante de la degradación de ácidos grasos acetil coenzima A se convierte en cuerpos cetónicos, que también serán utilizados por el sistema nervioso como fuente de energía. Los niveles de ácidos grasos se incrementan en el plasma de manera proporcional en relación a la severidad del daño tisular, incrementando su producción a favor de la oxidación (7).

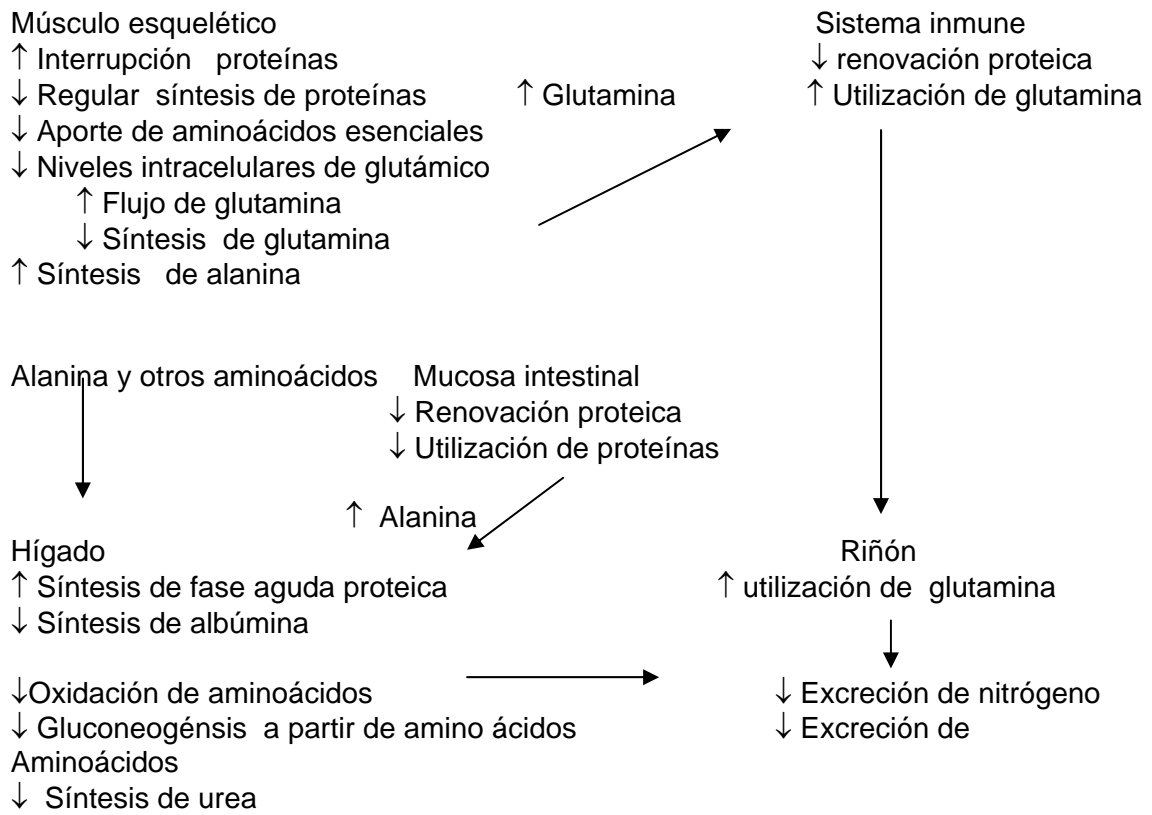
**Fig.2 Los cambios en el metabolismo de los lípidos durante el proceso de daño agudo**



Los cambios en el metabolismo de proteínas y aminoácidos durante el daño crítico, están representados por la pérdida de la masa muscular debido a un incremento en la proteólisis de las proteínas estructurales del músculo. La transaminación de todos los aminoácidos a Alanina en el músculo es la única forma de eliminación del nitrógeno, producto de la transaminación. Secundario a la deaminación de los aminoácidos, las cadenas carbonadas de los mismos son utilizadas en las vías glucolíticas y ciclo de Krebs, como fuente de energía. La transaminación de todos los aminoácidos a Glutamina para la eliminación de nitrógeno, secundario al catabolismo de los aminoácidos en los tejidos excepto del músculo incrementa la concentración de glutamina sérica. Aunque la glutamina es utilizada como un disparador en la división celular y precursor en gluconeogénesis, síntesis de nucleótidos, en presencia de una fuente de energía, la glutamina es también el substrato principal para la excreción de amonio y producción de Urea (7).

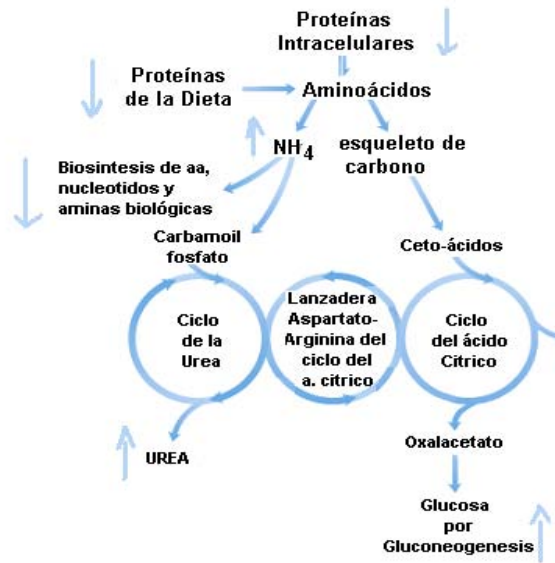
La proteólisis masiva dentro del músculo, es utilizada para compensar la síntesis de proteínas en el tejido visceral (hígado, intestino, células inmunes y tejido dañado) (Figura 4).

**Fig. 3. Cambios en el metabolismo de proteínas y aminoácidos.**





**Figura 4. Principales rutas metabólicas de degradación de proteínas, afectadas durante la desnutrición crónica.**



### **Papel de estrés oxidativo en la desnutrición perinatal.**

El estrés oxidativo, es un estado de desequilibrio a favor de la formación de radicales libres en relación con la producción y/o aporte de antioxidantes. La inactivación de los diferentes tipos de defensa del sistema antioxidante en el recién nacido que se manifiesta en un incremento en la producción de radicales libres, se ha asociado con diferentes estados patológicos como displasia bronco pulmonar, retinopatía de la prematurez, persistencia del conducto arterioso, enterocolitis necrotizante, hemorragia intracraneana, encefalopatía hipóxico – isquémica, entre otras. La desnutrición es una causa de estrés oxidativo de ahí que el pretérmino sea vulnerable. (3, 4, 9,10).

De una nutrición adecuada depende el crecimiento fetal normal y ésta es resultado de una compleja interacción entre tres compartimientos (materno, placentario y fetal) (11).

La nutrición materna es un factor primordial en el retardo del crecimiento intrauterino, la cuál involucra a macro nutrientes (lípidos, proteínas y carbohidratos) si no también a micro nutrientes (minerales, vitaminas), los cuales funcionan o forman parte del sistema antioxidante. La síntesis materna y fetal de aminoácidos como el ácido glutámico, la glicina y la cisteína (12) son

indispensables para la síntesis del amortiguador mas abundante del sistema oxido-reducción que es el *Glutathion* que se encuentra intra y extracelularmente en concentraciones milimolares (13). Por otro lado, la *Tioredoxina-reductasa* una proteína de alrededor de 120 aminoácidos que contiene en su sitio activo, cisteínas. Esta proteína de bajo peso molecular tiene una afinidad muy grande (en el orden nanomolar) por cisteínas vecinas, que componen a una parte importante de las proteínas intracelulares (5%) (14). Aunque la cisteína es un aminoácido no esencial, requiere del aporte del aminoácido esencial, la metionina para su síntesis. El aporte de proteínas ricas en aminoácidos esenciales garantizan una fuente de aminoácidos para la síntesis de *Glutathion*, *Tioredoxina-reductasa* y de enzimas en la defensa antioxidante como lo son las enzimas encargadas de reducir al *Glutathion* (*Glutathion reductasa*) y a la tioredoxina-reductasa. Ambos sistemas dependientes de cisteínas.

El estrés fetal deberá entenderse entonces como un desajuste en la homeostasis de un complejo fisiológico en vías de desarrollo con la posibilidad de lograr reestablecer funciones orgánicas sistémicas, modificando los mecanismos secundarios de malnutrición intrauterina para adaptarse al retardo en el crecimiento hasta antes del nacimiento. De ahí que se considere la capacidad antioxidante de la sangre de cordón como resultado de la experiencia intrauterina.

La variabilidad genética, el estrés oxidativo materno y la capacidad antioxidante materna es probable que alteren la capacidad antioxidante de la sangre de cordón umbilical. Posterior al nacimiento pueden incrementarse de los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos oxidados en respuesta al estrés oxidativo resultando en daño tisular. Las manifestaciones clínicas de de las enfermedades por radicales libres de oxígeno depende del equilibrio entre el daño tisular y su reparación. Sin embargo en neonatos pretérmino que tienen niveles disminuidos de enzimas antioxidantes y aún con niveles normales pudiera no evitarse el desarrollo de enfermedades por radicales libres si el estrés es importante. Los niveles de enzimas antioxidantes son difíciles de

medir, sin embargo, esto puede medirse en sangre (5). Los estudios más recientes sobre el estrés oxidativo demuestran que el primer objetivo de los radicales libres son las capas de la membrana de los fosfolípidos. Como consecuencia de esta reacción se ocasiona una peroxidación lipídica incluyendo la pérdida de la fluidez de la membrana, alteración de los receptores de membrana y lisis celular. Como modelo de estudio existen 2 posibles secuencias teóricas sobre el estrés oxidativo una es que como consecuencia del estrés oxidativo ocurre una peroxidación lipídica resultando en lesión celular. La secuencia alternativa habla que el estrés oxidativo causa lesión celular, la cual conlleva un incremento en la peroxidación lipídica y en consecuencia daño celular. Además los ácidos nucleicos pueden ser atacados con un subsiguiente daño en el ADN que puede causar mutaciones. Se ha propuesto también que el incremento de niveles de calcio libre y el daño a proteínas y ADN son eventos más importantes de lesión celular mayores que la peroxidación lipídica. Esto quiere decir que la peroxidación lipídica es frecuentemente consecuencia, mas que la causa de la muerte celular final. Los radicales libres tienen una vida media muy corta tan solo segundos, por lo cuál es muy difícil determinar concentraciones presentes en una muestra, por lo que se deben hacer mediciones de concentraciones de sistema de antioxidantes así como niveles de intermediarios (14).

## 2.4. JUSTIFICACIÓN

Los neonatos de bajo peso evidencian una fase de recuperación después que alcanzan el peso de nacimiento. Sin embargo el peso, la longitud corporal y el perímetro cefálico permanecen dos o más desviaciones estándar por debajo de los estándares intrauterinos. Los requerimientos necesarios para el crecimiento deben estar en función de la magnitud de recuperación que es necesario alcanzar y de la duración de dicha recuperación. Por ejemplo, los requerimientos para producir una recuperación de 500g en 50 días son los mismos que se necesitan para producir una ganancia diaria adicional de 10 g cada día (lo que varía de acuerdo a la composición del incremento de peso). Los requerimientos diarios para alcanzar este crecimiento en 25 días serán obviamente mayores mientras que los que habrá que satisfacer para lograrlo en 100 días serán menores (15).

Con certeza, la disminución del tiempo necesario para que el neonato recupere su peso de nacimiento requerirá en las primeras etapas de la vida un manejo más agresivo que lo que constituye la norma actualmente (16). Wilson y colaboradores compararon el manejo nutricional inicial agresivo (n = 64) con el manejo estándar (n = 61) en 125 neonatos con peso entre 1.200g - 1.499g, con ventilación mecánica en las primeras 24 horas de vida. El grupo manejado en forma agresiva recibió más tempranamente aminoácidos, hidratos de carbono y ácidos grasos por vía parenteral y las cantidades máximas infundidas de cada uno de los substratos energéticos fueron mayores. La alimentación enteral fue introducida más tempranamente en este mismo grupo y los criterios aplicados para restringir la alimentación fueron menos estrictos (17). De acuerdo a la hipótesis que se formuló, el suministro parenteral de nutrientes fue mayor en el grupo manejado en forma agresiva. Esto se reflejó en una menor pérdida inicial de peso en los lactantes manejados de manera agresiva (5,1%) del peso corporal comparados con el grupo que fue manejado de forma convencional (8,4%).

El grupo alimentado de forma "agresiva" recuperó su peso de nacimiento tres días antes que el otro grupo. El peso promedio de ambos grupos en el momento del alta (o del fallecimiento) no presentaron diferencias, pero una menor proporción de los pacientes tuvo el peso, longitud supina y el perímetro cefálico por debajo del percentil 10 de los estándares de crecimiento intrauterino.

Neonatos de bajo y muy bajo peso al nacer, provenientes de la Unidad de Cuidados Intermedios al Recién Nacido del INPer fueron sometidos a un esquema de alimentación parenteral agresiva (con un mayor aporte de aminoácidos), similar al estudio de Wilson y col., obteniéndose recuperaciones de peso, longitud supina, talla y perímetro cefálico mayores a los obtenidos con el esquema tradicional. Además, la alimentación parenteral hiperprotéica no ocasionó más complicaciones metabólicas, gastrointestinales e infecciosas, en comparación con la alimentación parenteral tradicional. Por lo que dentro de las principales conclusiones es que se puede administrar con seguridad en prematuros con muy bajo peso al nacer (16, 18, 19, 20)

Por otra parte, en México se informa una incidencia de bajo peso al nacer (BPN) del 8.2% cuando por definición considera < 2500 gramos al nacimiento (17). La repercusión más importante del bajo peso esta en la mortalidad temprana, llegando a ser el 91% del total de la mortalidad neonatal, debido a la presencia de la combinación de dos factores: Prematurez y bajo peso. Genéricamente existen diferencias a favor del sexo masculino con un índice de masculinidad de 1.5 con relación al sexo femenino. En neonatos con peso entre 1500-2500 gramos, cercanos al termino tienen una tasa de mortalidad de 5-30 veces mayor que los neonatos con peso entre el percentil 10-50 y en recién nacidos < 1500 gramos la tasa de mortalidad aumenta entre 70-100%.

La presencia de bajo peso al nacer aumenta la tasa de mortalidad fetal conforme incrementa la edad gestacional y en la etapa infantil es mayor de 10-15 veces durante el primer año de vida. (21) La mayoría de los estudios



sobre crecimiento neonatal con alteraciones en la proporcionalidad corporal incluyen a neonatos que al nacer obtienen el peso necesario considerado como adecuado para la edad gestacional correspondiendo a valores mayores al percentil 10. Por lo contrario, los neonatos con peso por debajo de este valor porcentual los clasifica de muy bajo peso. Se considera que los cambios en la composición corporal al nacer, la severidad y la modalidad de restricción, desvían del patrón normal de crecimiento postnatal, e incrementan la sensibilidad a desarrollar morbilidad asociada (6, 22, 23).

Tanto en el ámbito local –Instituto Nacional de Perinatología- así como en los principales hospitales con atención neonatal, se desconocen las características del estrés oxidativo y su relación con la magnitud de desnutrición. De igual manera si existe influencia del aporte proteínico energético y la gravedad del estrés oxidativo mediante la medición de glutatión / tioredoxina / glutatión reductasa / tioredoxina reductasa. Un estudio como el planteado, que establezca la presencia y magnitud del estrés oxidativo en relación al estado nutricional, permitiría identificar un problema subestimado y subdiagnosticado que quizá sea relevante. Estas observaciones podrían plantear estudios futuros de intervención nutricional por medio de antioxidantes que permitan incidir en una mejor evolución del paciente neonato de muy bajo peso al nacimiento.

### 2.5.3. Hipótesis

La repercusión del desequilibrio oxidativo en la etapa neonatal se asocia:

1. A muy bajo peso al nacer, identificado por índice ponderal  $< 2 \text{ g/cm}$
2. Disminución ponderal mayor al 10% en las dos primeras semanas de vida.
3. Velocidad de crecimiento,  $< 15 \text{ g / Kg / día}$ , a partir de la tercera semana de vida.
4. Incremento del 25% la morbilidad neonatal asociada desequilibrio oxidativo.

## **2.5. OBJETIVOS E HIPOTESIS**

### **Objetivo general**

Caracterizar el estrés oxidativo y el crecimiento en prematuros de muy bajo peso al nacer hospitalizados en las unidades de cuidado especial neonatal en el Instituto Nacional de Perinatología.

### **2.5.1. Objetivo general**

Determinar el estado oxido-reducción al nacimiento y durante el crecimiento postnatal intrahospitalario en prematuros de muy bajo peso al nacer alimentados con nutrición enteral y parenteral.

### **2.5.2. Objetivo específicos**

#### **Objetivos específicos**

1. Correlacionar las alteraciones en el patrón de crecimiento postnatal con las determinaciones del estrés oxidativo en prematuros de muy bajo peso al nacer durante la fase hospitalaria.
2. Comparar la incidencia y severidad de la morbilidad asociada al desequilibrio del estrés oxidativo en prematuros de muy bajo peso al nacer.

### **2.5.3. Hipótesis**

La repercusión del desequilibrio oxidativo en la etapa neonatal se asocia:

1. A muy bajo peso al nacer, identificado por índice ponderal  $\leq$  a 2 g/cm
2. Disminución ponderal mayor al 10% en las dos primeras semanas de vida.
3. Velocidad de crecimiento,  $<$  a 15 g / Kg /día /, a partir de la tercera semana de vida.
4. Incremento del 25% la morbilidad neonatal asociada desequilibrio oxido reducción.

De acuerdo a la evolución de los pacientes y para promover su comparación, se determinó por las siguientes características al grupo de estudio (caso):

- Disminución de peso mayor al 10% a las dos semanas de vida.
- Recuperación de peso al nacer  $\geq$  a los 15 días de vida
- Velocidad de crecimiento para peso,  $\leq$  al 15% , r a los 21 días de vida
- Peso al egreso menor al percentil 10 de acuerdo a la edad gestacional corregida

De acuerdo a la evolución de los pacientes y para promover su comparación, se determinó por las siguientes características a un grupo de referencia.

- RN de término eutrófico con peso adecuado para la edad gestacional



### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO.**

El estudio se llevó a cabo de Septiembre 2007 Septiembre 2008 en el Instituto Nacional de Perinatología, los pacientes incluidos en el estudio cuentan con autorización escrita de los padres en las Unidades de Cuidados Especiales al Recién Nacido.

1. El médico responsable del proyecto se encargó del ingreso del paciente al estudio y dará plena información y solicitud del consentimiento por escrito a los padres y se iniciará el registro de la información del expediente de orden perinatal.
2. Se realizaron mediciones antropométricas por el equipo multidisciplinario.
3. Desde el ingreso se vigiló la morbilidad hospitalaria.
4. Por semana y hasta el momento del egreso ⇒ Cuantificación de variables antropométricas, bioquímicas en tiempos convencionales y las adecuaciones nutrimentales.
5. Se obtuvieron muestras sanguíneas en los siguientes tiempos:
  - De cordón umbilical.
  - Al obtener 120 Kcal./k/día
  - Al momento del egreso

#### **3.2. CONTROL Y VALIDEZ DE MÉTODOS, TÉCNICAS Y DATOS**

Las mediciones antropométricas fueron realizadas por personal médico estandarizado de acuerdo al método de Habicht (19). Con un coeficiente de variación del método de 2% y con un coeficiente de variación inter observador de 2.5%.

#### **3.3 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS**

##### **DETERMINACIONES VOLTIMÉTRICAS DEL ESTADO OXIDO-REDUCCIÓN**

En Plasma y Orina con el Voltímetro (Arrow Dox TM Oxido-reducción Measurement System)

## **DETERMINACION DE GLUTATION REDUCTASA, TIOREDOXINA-REDUCTASA Y TIOREDOXINA-REDUCTASA REDUCTASA POR EL METODO DE ELISA**

La cuantificación de las proteínas glutatión reductasa, tioredoxina-reductasa y tioredoxina-reductasa reductasa presentes en plasma, eritrocitos y leucocitos de sangre de cordón umbilical se obtiene mediante la técnica de ELISA con kits comerciales (*glutathion reductase kit*, Calbiochem, y *Tioredoxina-reducciónin, Tioredoxina-reducciónin reductase kit*, Oxido-reducción Bioscience, Kyoto). Para todas las metodologías, se centrifuga la muestra de sangre con anticoagulante a 1000 x g por 10 min a 4°C. Se recuperan tres fracciones: el sobrenadante o plasma, un anillo blanquecino o concentrado leucocitario y un botón celular de eritrocitos. Plasma: ningún tratamiento previo. Eritrocitos: se rompen los eritrocitos con 4 volúmenes de agua fría grado HPLC y se centrifugan a 10,000 x g por 10 min a 4°C. Se colecta el sobrenadante que se utilizará para el ensayo. Leucocitos: el anillo blanquecino se colecta al cual se le agrega PBS y se centrifuga a 2000 x g por 10 min. Se rompen las células en un buffer frío (50 mM fosfato de potasio, pH 7.5, 1mM EDTA) y se centrifuga la muestra a 10,000 x g por 10 min a 4°C. Se colecta el sobrenadante que se utilizará para el ensayo. Brevemente, en una placa de 96 pozos se agregan 50 µl de una solución de anticuerpos monoclonales anti-tioredoxina-reductasa o anti- glutatión reductasa o anti-tioredoxina-reductasa reductasa (10 µg/ml en una solución de albúmina bovina sérica (ABS) al 5%) y se incuba toda la noche a 4°C. Se elimina esa muestra y se agregan 200 µl de buffer de incubación (ABS al 5%, Tween-20 al 0.05% en una solución salina al 0.9%) y se incuba la placa 2h a temperatura ambiente. Se lava la placa con buffer de lavado 4 veces (Tween-20 al 0.05% en una solución salina al 0.9%). Se agregan en los pozos 50 µl de las proteínas tioredoxina-reductasa o glutatión reductasa o tioredoxina-reductasa reductasa recombinantes o 50 µl de las muestras de plasma, eritrocitos lisados o leucocitos (por triplicado) preparadas en el buffer de incubación y se incuban toda la noche a 4°C. Se lavan las placas 4 veces con

el buffer de lavado y se agrega 50 µl de una solución de anticuerpo policlonal anti-tioredoxina-reductasa o anti-glutación reductasa o anti-tioredoxina-reductasa reductasa biotinilados (2 µg/ml en buffer de incubación) y se incuba 2h a temperatura ambiente. Se lavan las placas 4 veces con el buffer de lavado. Se agrega 50 µl de fosfatasa alcalina acoplada a estreptavidina diluída 1/1000 en buffer de incubación y se incuba 1h a temperatura ambiente. Se lavan las placas 6 veces con el buffer de lavado. Se agrega 50 µl de *p*-nitrofenil fosfato disuelto en 10% de dietanolamina, 0.02% NaN<sub>3</sub>, 0.5 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9.8 y se lee la absorbancia a 405 nm en un espectrofotómetro para placas de ELISA (Beckman).

#### **DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA DE GLUTATION REDUCTASA Y TIOREDOXINA-REDUCTASA REDUCTASA POR METODOS COLORIMETRICOS**

La determinación de la actividad de la glutación reductasa presente en plasma, eritrocitos y leucocitos de sangre de cordón umbilical se realiza por un método colorimétrico mediante el kit *Glutathion reductase assay* (no. cat. 703202, Cayman Chemicals) mientras que la determinación de la actividad de tioredoxina-reductasa reductasa se obtiene por ensayo colorimétrico de reducción de insulina (no comercial). Para todas las metodologías, se centrifuga la muestra de sangre con anticoagulante a 1000 x *g* por 10 min a 4°C y se recuperan tres fracciones a las cuales se les realiza el proceso mencionado anteriormente (5.4).

**Actividad de la glutación reductasa.** En los pozos de la placa de 96-pozos se agrega 120 µl de buffer de ensayo y 20 µl de GSSG para el blanco (reactivos provistos por el kit) o 100 µl de buffer de ensayo, 20 µl de GSSG y 20 µl del control positivo (glutación reductasa recombinante) o 100 µl de buffer de ensayo, 20 µl de GSSG y 20 µl de cada una de las muestras. Se agregan 50 µl de NADPH a cada pozo y se mezcla rápidamente. Se lee la absorbancia cada minuto a 340 nm con un espectrofotómetro (DU800, Beckman). Se

determinan la actividad de la glutatión reductasa con los valores de las pendientes de actividad y el control positivo de la enzima. Se determinan las concentraciones de GSH extrapolando los valores en la curva estándar. Rango de detección: 20-255 nM/min/ml.

**Actividad de la tioredoxina-reductasa reductasa.** Brevemente, se realiza una mezcla de reacción de 40  $\mu$ l (conteniendo 200  $\mu$ l de HEPES (pH7.6), 40  $\mu$ l de 0.2 M EDTA, 40  $\mu$ l de NADPH (40 mg/ml) y 500  $\mu$ l de insulina (10 mg/ml)) que se mezcla con 10  $\mu$ l de 360  $\mu$ M de tioredoxina-reductasa recombinante de *E.coli* y finalmente 70  $\mu$ l de la muestra ajustando el volumen final a 120  $\mu$ l. Se incuba la mezcla 20 min a 37°C. La reacción se para agregando 500  $\mu$ l de una solución de ácido 5,5'-ditiobis-nitrobenzoico (40 mg/ml) en hidrocloreuro de guanidina 6M. Se mide la absorbancia a 412 nm en un espectrofotómetro (DU800, Beckman).

El costo aproximado para 24 muestras por triplicado es de 3000 pesos (blanco, curva de calibración y 24 muestras).

## **DETERMINACION DE GLUTATION TOTAL POR METODO**

### **COLORIMETRICO**

La determinación de glutatión total (GSH) presente en plasma, eritrocitos y leucocitos de sangre de cordón umbilical se realizará por un método colorimétrico mediante el kit *Total Glutathion quantification assay* (no. cat. T419-10, Dojindo). Se centrifuga la muestra de sangre con anticoagulante durante 10 min a 1000 x *g* a 4°C. Se recuperan tres fracciones: el sobrenadante o plasma, un anillo blanquecino o concentrado leucocitario y un botón celular de eritrocitos.

Plasma: se transfiere el sobrenadante a otro tubo y se le agrega ½ volumen de ácido sulfosalicílico (SSA) al 5% y se centrifuga a 8000 x *g* por 10 min a 4°C. El sobrenadante se transfiere a otro tubo para realizar en ensayo.

Leucocitos: el anillo blanquecino se transfiere a otro tubo al cual se le agrega PBS y se centrifuga por 10 min a 200 x *g*. Se elimina el sobrenadante y al botón celular se le agregan 80  $\mu$ l de HCl 10 mM y se congelan y descongelan dos veces para romper las células. Se agrega 20  $\mu$ l de SSA al 5% y se

centrífuga a 8000 x g por 10 min. Se transfiere el sobrenadante a otro tubo para realizar el ensayo.

Eritrocitos: se rompen (o lisan) los eritrocitos con 4 volúmenes de SSA al 5%. Se centrifuga el tubo a 8000 x g por 10 min a 4°C y se transfiere el sobrenadante a otro tubo.

**Ensayo de glutatión.** En los pozos de la placa de 96-pozos se agregan 20 µl de la solución de enzima (provista en el kit), 140 µl de la solución de coenzima y 20 µl de la solución estándar de GSH (reactivos provistos en el kit) o la solución muestra de plasma o de eritrocitos (todas las muestras por triplicado). Se incuba la placa a 30°C por 10 min. Se agregan 20 µl de la solución sustrato (ácido 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoico) o DTNB provista por el kit) y se incuba a 37°C por 20-40 min. Se lee la absorbancia a 415 nm en un espectrofotómetro (Beckman). Se determinan las concentraciones de GSH extrapolando los valores en la curva estándar. Rango de detección: 0.5-25 µM.

### **3.4 RECOLECCION DE DATOS**

Los datos se recabarán mediante una hoja de recolección de datos (anexo 1).

### **3.5 VARIABLE INDEPENDIENTES**

Esquema de alimentación parenteral / enteral (anexo 2)

### **VARIABLES DEPENDIENTES, Evaluación bioquímica de equilibrio**

#### **OXIDO-REDUCCIÓN:**

En plasma, eritrocitos y leucocitos de sangre de cordón umbilical al nacer.

En sangre periférica (1 ml) en las siguientes fases del crecimiento antropométrico:

#### **VARIABLES INTERCURRENTES:**

Transfusiones de hemoderivados (paquete globular)

Esteroides postnatales

Uso de inmuno- moduladores (gammaglobulina hiperinmune humana)

### **3.6 EVALUACIÓN BIOQUIMICA:**

Se obtendrán muestras séricas para evaluación del sistema antioxidante en los siguientes tiempos:

De sangre de cordón (en plasma), eritrocitos y leucocitos.

De sangre periférica (1 ml) en las siguientes fases de intervención nutricional

Día de aporte de 120 Kcal. / K (vía oral)

Día de egreso hospitalario.

Determinación del sistema antioxidante y protección enzimática al determinar cantidades de proteína y actividad de Glutathion, tioredoxina-reductasa, Glutathion reductasa y tioredoxina-reductasa reductasa por técnicas Colorimétricas (2, 24) y de Elisa (13).

### **3.7 DETERMINACIONES VOLTIMÉTRICAS DEL ESTADO OXIDO-REDUCCIÓN**

En Plasma y Orina con el Voltímetro (Arrow Dox TM Oxido-reducción Measurement System)

### **3.8 MORBILIDAD HOSPITALARIA ASOCIADA A DESEQUILIBRIO OXIDATIVO**

- Bajo peso
- Displasia broncopulmonar
- Retinopatía
- Persistencia del conducto arterioso
- Enterocolitis necrosante
- Hemorragia intracraneana
- Encefalopatía hipóxico – isquémica

### **3.9 EVALUACIÓN ANTROPOMÉTRICA**

- Registro de peso corporal diario hasta el egreso
- Registro de perímetro cefálico y longitud supina semanal
- Velocidad de crecimiento
- Ganancia porcentual de peso al nacer
- Ganancia porcentual de peso de acuerdo al examen anterior
- Día de pérdida máxima de peso.
- Día de crecimiento rápido ó “catch – up”.
- Día de egreso hospitalario.

#### **3.1.1 LUGAR Y DURACION**

El presente estudio se pretende realizar en las Unidades de Cuidados Especiales del Recién Nacido del Instituto Nacional de Perinatología en 12 meses.

#### **3.1.2. UNIVERSO, UNIDADES DE OBSERVACION, METODOS DE MUESTREO, Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.**

Para fines de investigación y por las características del estudio se realizará en neonatos prematuros con peso de 1000 a 1500 gramos y edad gestacional entre 32 y 36.6 semanas al nacer.

#### **3.1.3 UNIDADES DE OBSERVACION**

Recién Nacidos de  $\leq 36.6$  SDG y peso al nacer  $\leq 1500$  gramos, que cumplan con los criterios de inclusión.

#### **3.1.4. METODOS DE MUESTREO**

Para los fines de este estudio se tomará a todos los recién nacidos vivos que cumplan con los criterios establecidos, incluyéndose sucesivamente en un grupo de estudio, hasta completar los casos necesarios, según el tamaño de muestra estimado para el grupo de estudio. Iniciando el proceso de doble cegamiento al analizar las variables de desenlace.

#### **3.1.5. TAMAÑO DE LA MUESTRA**

El calculo del tamaño muestral, para una encuesta relativa a la población esta

determinado por tres factores:

- 1) Prevalencia estimada de la variable considerada (desnutrición neonatal).
- 2) Nivel deseado de confiabilidad
- 3) Margen de error aceptable.

El tamaño de la muestra para un diseño aleatorio simple, se calcula por medio de la siguiente fórmula:

$$N = \frac{t^2 \times p(1-p)}{m^2}$$

N = tamaño de la muestra requerido

t = nivel de fiabilidad de 95% (valor estándar de 1.96)

p = prevalencia estimada de la desnutrición neonatal

m = margen de error de 5% (valor estándar de 0.05)

Substitución de valores:

$$N = \frac{3.8416 \times .59(1-.59)}{.0025}$$

N =37 pacientes por grupo de estudio, mas el 10% por perdida son un total de 40 por grupo

### **3.1.6. CRITERIOS DE INCLUSION, EXCLUSION Y ELIMINACIÓN**

#### **Criterios de inclusión maternos:**

- Edad apropiada para la gestación ( 19 – 34 años)
- Control prenatal (mínimo 2 consultas antes de la resolución de la gestación)
- Gestación única
- Índice ponderal gestacional al momento de la resolución de la gestación (< 19 y mayor a 30 kg/m<sup>2</sup>)



**Criterios de no inclusión materna:**

- Corioamnioitis corroborada
- Enfermedad hipertensiva aguda por clasificar
- Enfermedades autoinmunes
- Diabetes mellitus y gestacional

**Criterios de inclusión neonatal:**

- Prematuros de 32 a 36.6 semanas de edad gestacional (FUM o Capurro), con peso menor de 1500 gramos al nacimiento e índice ponderal de 2.2 a 2.6, los cuales ingresaron a la unidad de cuidados intermedios al recién nacido.

**Criterios de no inclusión neonatal:**

- Neonatos con malformaciones congénitas mayores (neurológicas, cardiológicas, gastrointestinales, renales y músculo-esqueléticas)
- Enfermedades cromosómicas corroboradas
- RN con infección activa congénita por TORCH
- Enfermedad hemolítica secundaria a ABO ó Rho
- Lupus neonatal en evolución
- Púrpura neonatal en evolución (autoinmune e isoimmune)
- Neonatos con tratamiento prenatal de esteroides, insulina, hormonas tiroideas

**Criterios de eliminación neonatales:**

- Síndrome de intestino corto
- Síndrome nefrótico
- Hidrocefalia posthemorrágica
- Cardiopatía congénita
- Errores innatos del metabolismo

### 3.1.7 DEFINICIONES OPERACIONALES

**Recién nacido con muy bajo peso al nacer:** peso  $\leq$  1500 gramos (OMS).

**Estrés oxidativo:**

Es la reacción química en el cual un electrón es transferido de una molécula a otra, la molécula del electrón donante se le denomina AGENTE REDUCIDO y la molécula que acepta el electrón, es una molécula oxidada u OXIDATIVO. Los agentes reducidos u oxidados se le conocen como parejas conjugadas y significa que el material adicionado disminuye la positividad como valor propio molecular. (Lehninger, Principles of Biochemistry, McGraw – Hill Dictionary of Scientific and Technical Terms, 5th Ed Year)

**Peso corporal:** registro del peso cuantificado en gramos. Se utilizará báscula que estará colocada en una superficie plana, horizontal y firme, antes de iniciar las mediciones se comprobará su buen funcionamiento, se probará su exactitud cada semana utilizando un juego de pesas previamente taradas.

**Consumo de energía:** Se cuantificará diariamente el aporte calórico de la alimentación parenteral, durante su estancia hasta el egreso. Se tomará en cuenta el tipo de alimentación enteral (fórmula o leche materna) y se expresará como energía total y energía / Kg. de peso

**Velocidad Media de Crecimiento (VMC)** se define como el registro del peso corporal obtenido en el lapso comprendido entre el examen anterior y el examen actual, (Unidades de medición g/día)

**Ganancia de peso respecto al nacer (GNAC):** es el registro obtenido del peso respecto al nacimiento y al examen actual, expresado porcentualmente en la unidad de peso, (Unidades de medición: porcentaje)

**Ganancia de peso respecto al examen previo (GEP):** es el resultado obtenido respecto a la medida anterior, expresado porcentualmente y por la unidad de peso en el examen inmediato anterior (Unidades de medición: porcentaje)

**Longitud corporal en decúbito supino:** medida expresada en cm el cual se obtiene con la utilización de infantómetro. Instrumento: Neoinfantómetro Graham-Fiel Inc. Hauppauge, NY. GRAFCO el cual cuenta con las siguientes condiciones; superficie horizontal dura, graduada en centímetros, superficie vertical fija en un extremo de la mesa, Técnica: se realizará la medición por dos personas de acuerdo al método de Miller, se utilizará el reflejo tónico asimétrico del cuello para superar la tendencia natural de los neonatos de mantener la cadera y rodillas en flexión, posteriormente se coloca al paciente en decúbito dorsal, sobre el eje longitudinal del infantómetro sosteniendo la cabeza firmemente de modo que el vertex quede en contacto con la superficie fija, se sujeta al paciente por las rodillas usando la mano izquierda, con la mano derecha se moviliza la plancha podálica hasta que quede en contacto con los pies.

**Perímetro cefálico: Instrumento:** Circunferencia total expresada en cm el cual es medido a partir de la porción más prominente a nivel occipital alineándose la cinta a nivel frontal supraciliar. Instrumento cinta métrica ó metálica de fibra de vidrio angosta de 0.5cm, con extremos superpuestos para poder leer la medición, si la circunferencia por medir es pequeña y la cinta es ancha la superposición de extremos puede causar suficiente error para que la medición sea poco confiable. Técnica: se medirá en el diámetro mayor occipito-frontal, se tomará la medición mayor de 3 mediciones consecutivas.

**Índice ponderal:** se obtiene multiplicando el peso en gramos por cien y dividido entre la talla en cm elevada a la tercera potencia, es una de las relaciones peso longitud en la que la ley geométrica de la dimensionalidad se manifiesta, si el volumen tridimensional ó la gravedad específica es mantenido aproximadamente constante, el peso de los cuerpos similares es proporcional al cubo de sus dimensiones.

$$\text{Índice de ponderal} = \frac{(\text{peso al nacer en gramos}) \times 100}{(\text{Longitud coronal-talonar en cm})^3}$$

**Nutrición parenteral temprana:** Actualmente se ha propuesto el inicio de una nutrición de aporte proteico alto (3gramos/Kg./día) desde el primer día de vida, con la finalidad de disminuir las pérdidas de nitrógeno la primera semana y promover una adecuada velocidad de crecimiento.

Hiperglucemia: Glucosa > 150mg/dl

Hipertrigliciridemia: > 200mgr/dl

Acidosis metabólica: pH < 7.20 y EB - 13 meq/l

Hiperbilirrubinemia conjugada: Bilirrubina directa > 2mg/dl ó mayor del 20% de la bilirrubina total.

Grupo de éxito

Alimentación parenteral hiperprotéica desde el primer día:

Peso al nacer > al percentil 10

Longitud supina al nacer > al percentil 10

Perímetro cefálico al nacer > percentil 10

Día de máxima pérdida dentro de los primeros diez días

Día de crecimiento rápido dentro de la segunda semana de vida

Velocidad de crecimiento > 15 gramos /día/ semana

Reserva oxidativo (tioredoxina-reductasa, glutation) > al percentil 10

Lipoperoxidación: < al percentil 25

### **3.1.8 PLAN DE ANÁLISIS.**

Los cambios en los indicadores antropométricos (peso, perímetros, pliegues y longitud supina) se evaluarán a través de modelos generales lineales (MGL), para datos repetidos. Finalmente la incidencia de morbilidad se realizará a través de tablas de sobrevivencia y se estimará la  $\chi^2$  de log rank.

#### **4. ASPECTOS ETICOS.**

Consideraciones éticas.

El presente estudio se apega a los principios éticos expuestos en la Declaración de Helsinki, para la Investigación Médica en donde participen sujetos humanos, no representa ningún riesgo para el estado de salud del paciente y las muestras que se necesiten para efectuar dicho estudio se tomarán en las mismas punciones venosas que se requieran para los estudios regulares, evaluación y tratamientos pendientes.

- Se solicitará el consentimiento de los padres para que estén en pleno conocimiento del estudio.
- La investigación se llevará a cabo bajo la supervisión del médico responsable del Servicio de Terapia Intermedia, Dra. Silvia Romero Maldonado.
- Se les informará a los padres de los pacientes que tienen derecho a negarse a participar en el estudio y en caso de aceptar tienen libertad de abandonar el estudio en cualquier momento sin que esto afecte de

Ninguna manera la accesibilidad y la calidad de los servicios médicos a los que tienen derecho en el Instituto.

INVESTIGACION CON RIESGO MINIMO como se ha demostrado en investigaciones previas como las realizadas por Patti Thurreen, Rhut Evans y otros autores con cuya bibliografía se sustenta nuestro protocolo (Evans and Thurreen, 2001; Troche, 1995 y Slagle et al., 1988) así como nuestra experiencia previa en el INPer (Guzmán, 2006).

#### **INVESTIGACION CON RIESGO MINIMO:**

CARTA DE CONSENTIMIENTO (ver anexo 6)

## **5. ORGANIZACIÓN**

### **RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES**

#### **CAPACITACION DE PERSONAL**

Se capacitó al estudiante de la Facultad de Química de la UNAM, Pavel Vázquez Ortega para determinar por Electroforesis Capilar las muestras de sangre y orina que serán sujetas a estudio.

#### **INSUMOS DISPONIBLES**

- Infantómetro SECA
- Cinta métrica de fibra de vidrio
- Cinta métrica para circunferencia de cabeza
- Báscula de peso, marca Tanita

## 7. FINANCIAMIENTO

Subcuent	CONCEPTO	NÚ	COSTO UNITARIO	COSTO
01	Unidad de Investigación 01.1. Pacientes 01.1.1. Hospitalización día/cama 01.1.2. Consulta médica 01.2. Otros (especificar)	60		
02	Personal auxiliar 02.1. Médico 02.2. Enfermería 02.3. Secretarial 02.4. Capturista 02.5. Encuestador 02.6. Otros (especificar) Pasantes de nutrición Pasante de QFB (uso de electroforesis capilar)	4 2 1	Horario de asistencia 4000 pesos/mes (3 meses)	\$12,000.00
03	Viáticos para congresos Gastos de publicación Gastos para traducción			\$30,000.00
04	Estudios de gabinete			
05	Estudios especiales (describir)			
06	Materiales y equipo: Bolsas colectoras para orina Bolsas colectoras de sangre Crioviales para guardar la muestra hasta su Voltimetría (equipo micro voltímetro) Electroforesis Capilar (EC) Cassets de lectura Fluoroforos Capilares Determinaciones por ELISA y Colorimetría Minicentrífuga C1301 Labnet Infantómetro Báscula	600 100 3 1 2 1 5m 60 1 1 1	\$500paquete de 100 \$107.00 la unidad Paquete de 500 piezas \$ 2100.00 pesos \$12,840.00 \$ 3900.00 c/u \$ 1200.00 \$ 2000.00 \$116,250.00 \$6,000.00 \$1,500.00 \$3,000.00	\$1000.00 \$10,700.00 \$7,560.00 \$12,840.00 \$7,800.00 \$1,200.00 \$10,000.00 \$232,500.00 \$6,000.00 \$1,500.00 \$3,000.00
07	Otros (Alimentación parenteral Trombina) Mediciones antropométricas semanales		\$350.00 1 vial	\$315,000.00
08	Honorarios de investigadores		Operación de EC	
			<b>COSTO DIRECTO</b>	\$651,100.00
09	Instituto Nacional de Perinatología (20% del costo directo) Para proyectos con financiamiento			
			<b>COSTO TOTAL</b>	\$651,100.00

## RESULTADOS

Hasta la fecha se llevan estudiados 14 pacientes de los que siete son casos y corresponden al Grupo A y los otros siete son controles, del Grupo B.

Los casos son por llenar sólo el criterio de estar con el peso al egreso por debajo del percentil 10. En el cuadro 1 se muestran las variables de morbilidad asociadas de los pacientes evaluados.

VARIABLES	NÚMERO	PORCENTAJE
RCIU	5	35.7
RCIU simétrico	2	14.3
RCIU asimétrico	4	28.6
Hipoglucemia	1	7.1
Hiperglucemia	6	42.9
Sepsis temprana	2	14.3
Sepsis tardía	2	14.3
SDR	1	7.1
Meningitis	1	7.1
ECN IA	1	7.1
PCA	1	7.1

En el cuadro 1 se muestran las variables antropométricas de ingreso y durante su seguimiento. El peso inicial promedio fue de  $(432 \pm 124 \text{ g})$  y  $(1397 \pm 193 \text{ g})$  para los Grupos A y B, respectivamente, sin diferencia estadística entre ellos, igual que para la talla que fue de  $(40.5 \pm 1.8 \text{ cm.})$  y  $(40.3 \pm 2.2 \text{ cm.})$  con una p no significativa para los mismos grupos.

En el mismo cuadro se muestra la pérdida máxima de peso, en porcentaje, que fue de  $4.5 \pm 3.3 \%$  en el Grupo A y  $5.5 \pm 6.6 \%$  en el B, sin diferencia significativa, la que tampoco hubo para el día de pérdida máxima ( $3.4 \pm 1.5$  vs  $3.5 \pm 2.0$ ), para el día de recuperación de peso al nacer (5.8 vs 6.7) ni para las variables



antropométricas de peso, talla, PC o en la velocidad media de crecimiento para la primera y segunda semana.

### **Cuadro1**

VARIABLES	GRUPO A*		GRUPO B**		VALOR DE P
	PROM	DE	PROM	DE	
Peso al nacimiento (g)	1432.86	+ 124	1397.1	+ 193	0.69
Perdida máxima de peso (%)	4.5	± 3.3	5.5	± 6.14	0.36
Día de pérdida máxima	3.4	± 1.5	3.57	± 2.07	0.47
Día de recuperación de peso al nacimiento	5.8	± 2.7	6.71	± 3.55	0.48
Peso en primer semana (g)	1432	± 104.8	1412	± 217.8	0.17
Peso en segunda semana (g)	1586.5	± 141.5	1616	± 203.9	0.41
Talla en primer semana (cm)	40.5	± 1.8	40.3	± 2.2	0.51
Talla en segunda semana (cm)	41	± 2.04	41.1	± 2.26	0.65
PC en primera semana (cm)	29.55	± 1.4	28.8	± 1.7	0.61
PC en segunda semana (cm)	30.2	± 1.4	29.8	± 1.6	0.72
VMC en primera semana (g/Kg/d)	3	± 9.3	2.3	± 3.9	0.73
VMC en segunda semana (g/Kg/d)	15	± 8.7	21.8	± 7.6	0.91

\*Casos = recién nacidos con peso < percentil 10

\*\* Controles = recién nacidos con peso > percentil 10

En el Cuadro 2 se observan las variables nutricionales para los dos grupos. La NPT se inició en el grupo A, a las  $23.8 \pm 13.8$  horas y en el B a las  $16.0 \pm 11.9$  horas, sin diferencia estadística significativa, la que tampoco hubo al comparar la duración, en días, de la NPT que fue de manera respectiva de ( $5.1 \pm 3.8$  y  $6.1 \pm 5.1$ ) o el tiempo, también en días, que se tardó para llegar a 120 Kcal/kg/d que fue ( $8.8 + 6.4$  Kcal) y ( $7.6 + 3.5$  Kcal). Donde si se encontró diferencia significativa fue

para el momento. De inicio de la vía oral que fue a los 8.4 + 10.7 días para el primer grupo y a los 2.4 + 1.9 días.

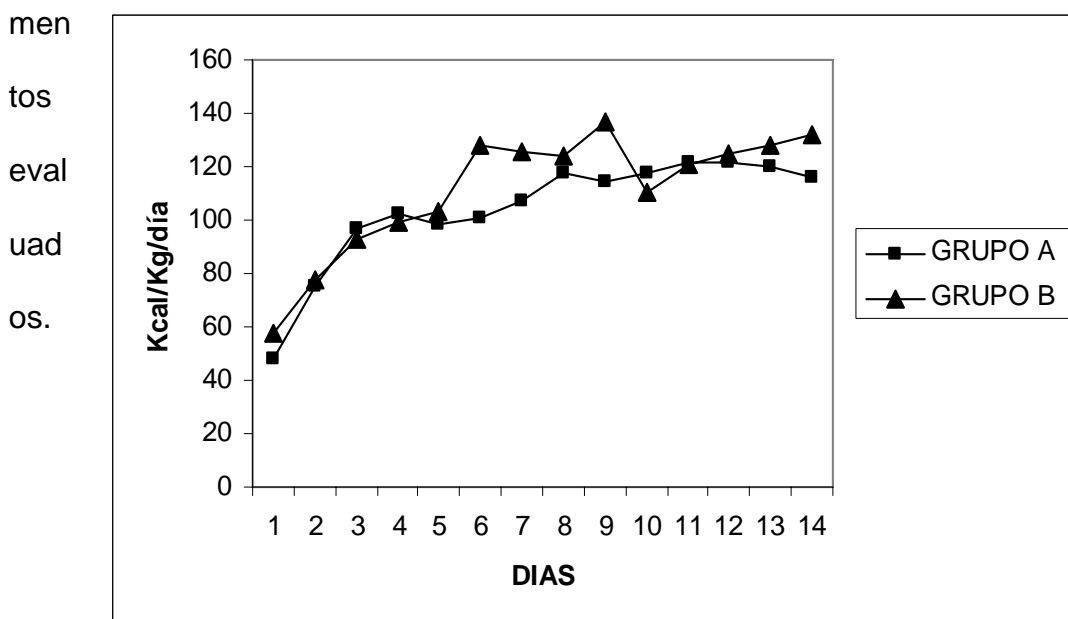
**Cuadro 2**

Variables	Grupo A* Promedio / DE	Grupo B** Promedio / DE	Valor de P
Inicio de NPT (horas)	23.86 ±13.86	16.00 ± 11.93	0.5
Duración en días NPT (días)	5.14 ± 3.8	6.14 ± 5.11	0.1
Inicio de vía oral (días)	8.43 ± 10.78	2.43 ± 1.99	0.002*
Tiempo para 120 Kcal (días)	8.86 ± 6.44	7.57 ± 3.55	0.4

\*Casos = recién nacidos con peso < percentil 10

\*\* Controles = recién nacidos con peso > percentil 10

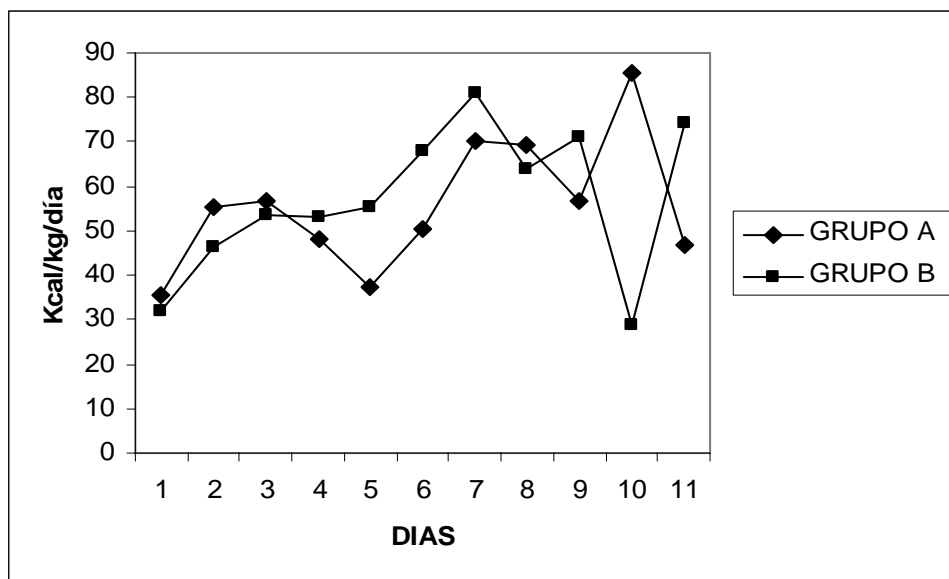
En la Gráfica 1 se muestra el aporte energético para los dos grupos, de acuerdo a los días de edad, sin que haya diferencia en ninguno de los



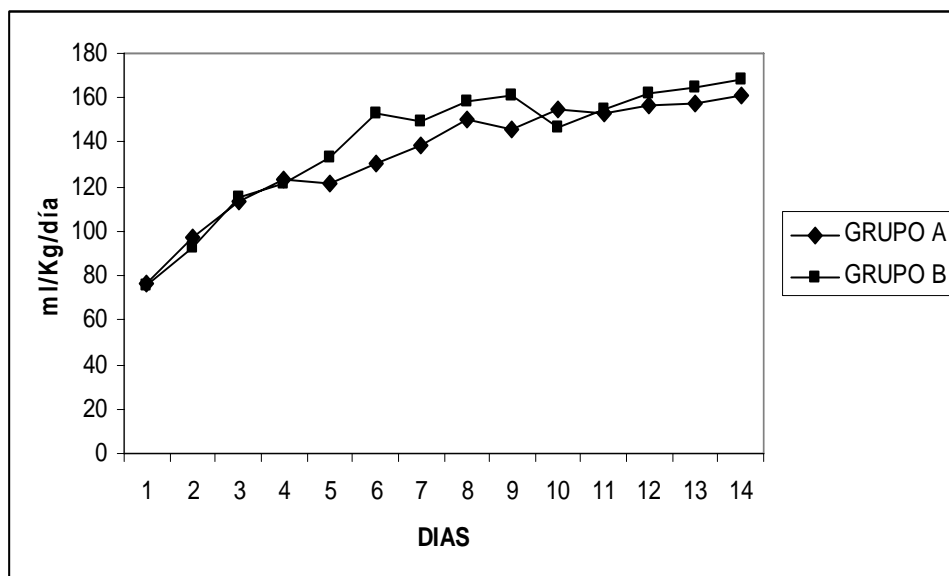
**Gráfica 1. Aporte energético en los dos grupos de estudio**

Lo mismo ocurre cuando se valora el aporte calórico proteico.

En la Gráfica 3 se muestra el aporte de líquidos por días de vida para los dos grupos, también sin diferencia estadística significativa.

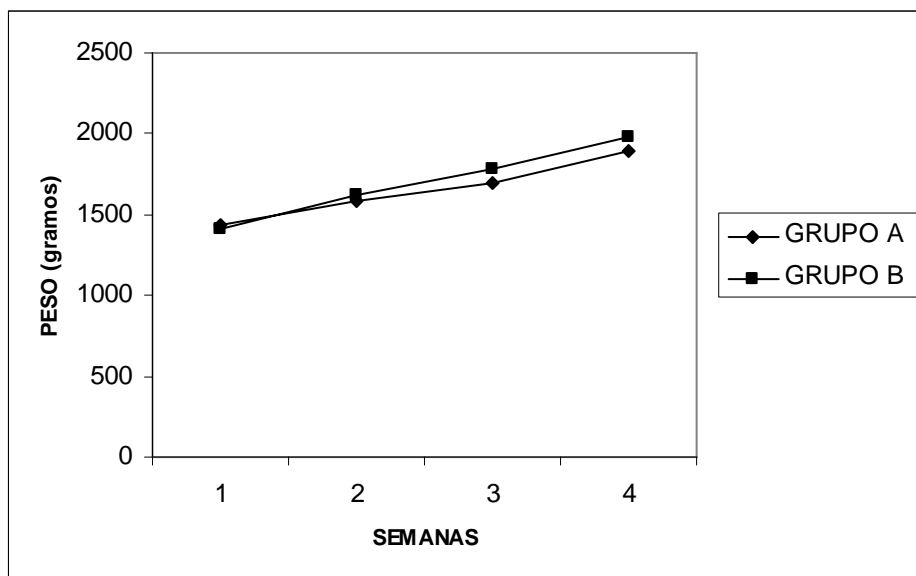


**Gráfica 2. Comparación de aporte de calorías no proteicas en los 2 grupos de estudio**

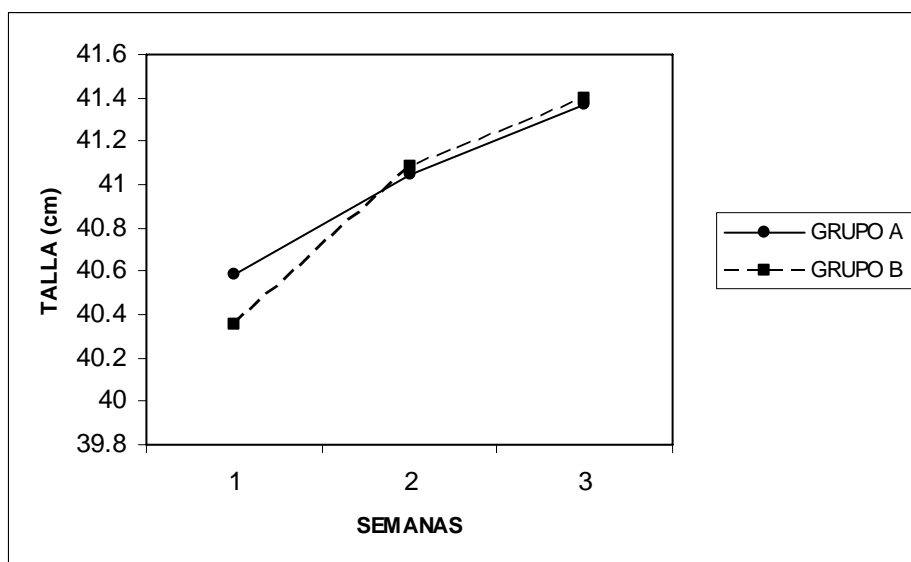


**Gráfica 3. Comparación de aporte de líquidos en los 2 grupos de estudio**

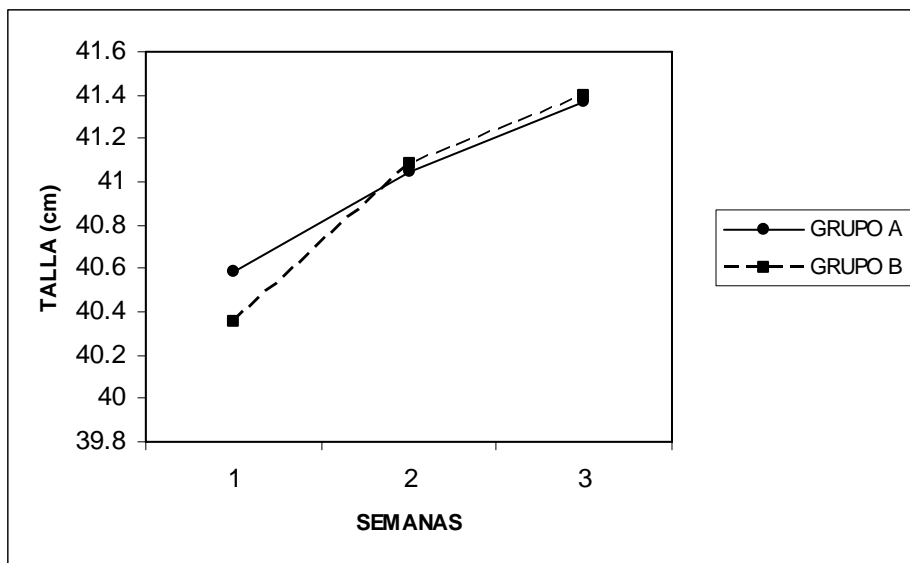
En las Gráficas 3, 4 y 5 se muestra la evolución del peso, talla y perímetro cefálico para los dos grupos en los tres momentos evaluados, sin que haya diferencia significativa entre los dos grupos para alguna de dichas variables, en los distintos tiempos evaluados.



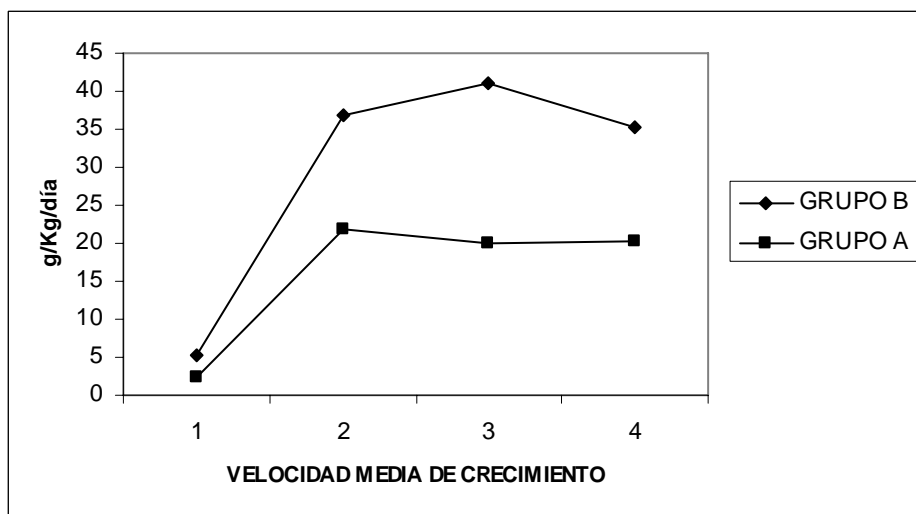
**Gráfico 3 Evolución comparativa de peso en los dos grupos**



**Gráfico 4 Evolución comparativa de talla en los dos grupos**



**Gráfico 5 Evolución comparativa de talla en los dos grupos**



**Gráfico 6 Evolución comparativa de la velocidad media de crecimiento**

En la Gráfica 6 se esquematiza la velocidad media de crecimiento en donde se puede observar que el grupo que se egreso con desnutrición mostró un subcrecimiento vs los pacientes con egreso sin desnutrición.

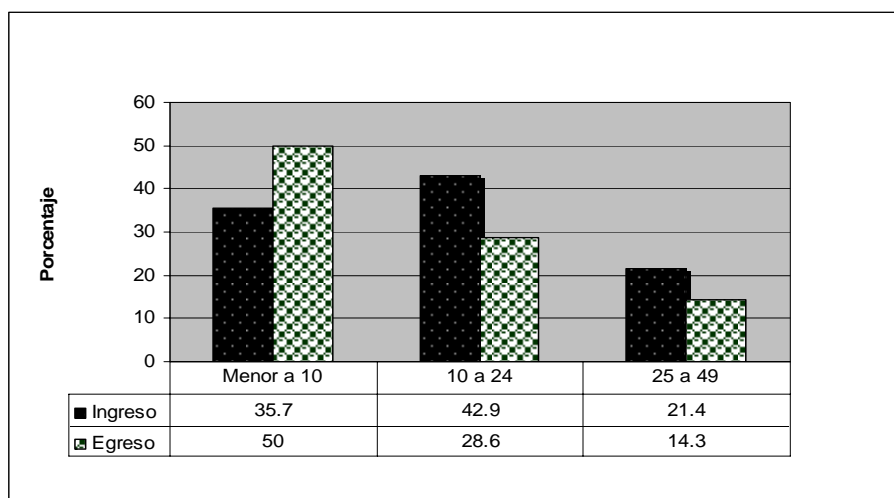


Grafico 7. Comportamiento global del peso al ingreso y egreso según sus percentilas

En el gráfico 7. Se observa que una cuarta parte de los pacientes ingresaron con diagnóstico de déficit de peso para las gráficas de Lubchenco incrementándose la población de desnutridos al egreso hasta un 14.3%. De igual manera el porcentaje de pacientes eutróficos disminuyó en la percentila 10-24 así como en la 25-48. En el gráfico 8 se observa como se incremento el porcentaje hasta del 21% en el grupo de talla por debajo del percentil 10 para las gráficas de Lubchenco y presentando un comportamiento similar al peso en las percentilas 10-24 así como 25-48.

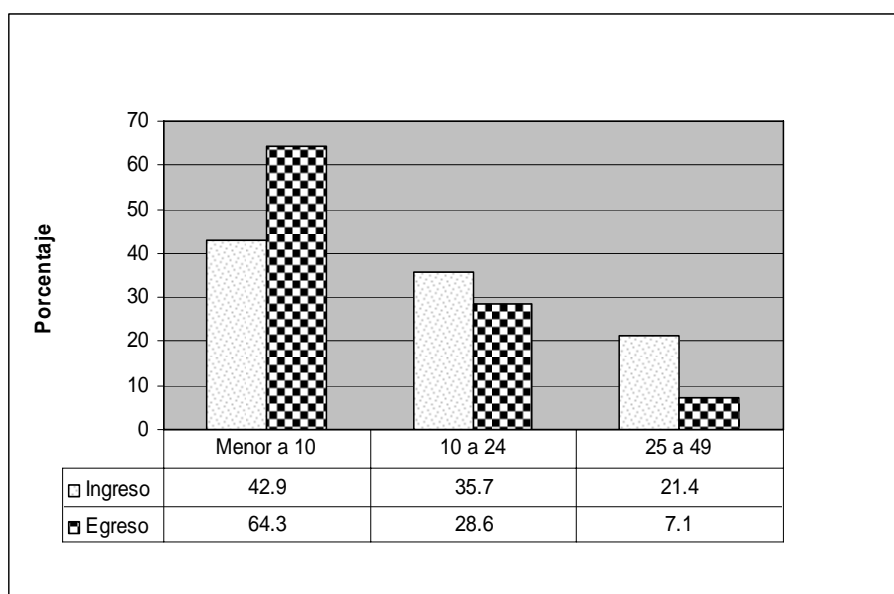


Grafico 8. Comportamiento global de la talla al ingreso y egreso según sus percentilas

En cuanto al incremento del perímetro cefálico se puede observar un déficit en el crecimiento del mismo debido a que de igual manera se incremento hasta en un 15.7% la población con falta de crecimiento del perímetro cefálico. Grafica 9.

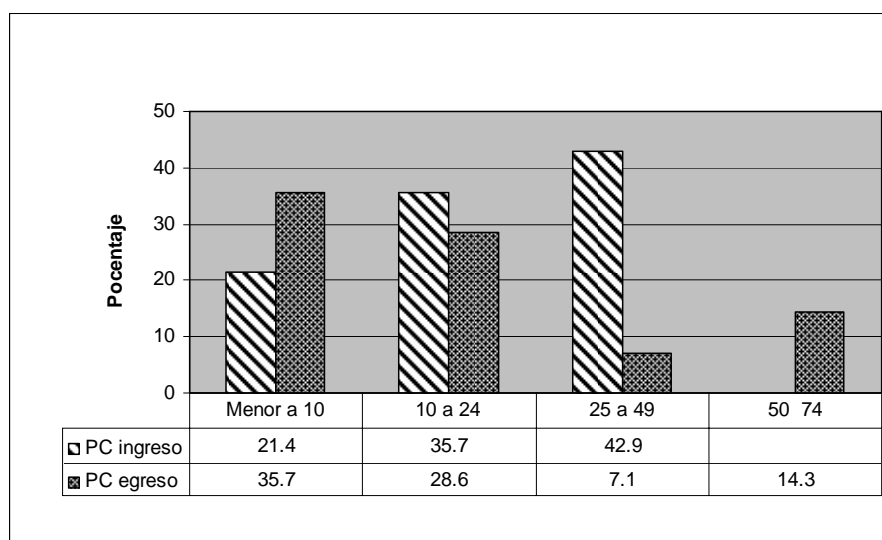


Grafico 9. Comportamiento global del perímetro cefálico al ingreso y egreso según sus percentilas

## **DISCUSION**

Los resultados son preliminares, apenas va la mitad de la muestra y quizá por ser tan pocos casos en algunos puntos donde parece haber diferencia en los promedios la variación es muy amplia y no alcance la significancia estadística.

Hasta ahora, en lo que hay diferencia para los niños que tuvieron su peso al egreso por debajo del percentil 10 es que se inició la VO en forma más tardía.

El aspecto mas importante es relacionar la evolución pondo-estatural con el grado de estrés oxidativo para lo que se van a correr las muestras hasta el final del estudio y se vera si existe alguna correlación o no entre dichas variables.

Aún no se sabe si es que la evaluación de los pacientes que se egresaron con peso por debajo del percentil 10 se encontrará en estado de estrés oxidativo.

Cabe mencionar que parte del comportamiento de crecimiento de los neonatos egresados con desnutrición, fue menor, según las gráficas de peso para edad gestacional según Lubchenco. En relación al crecimiento postnatal se han reportado en diferentes bibliografías la velocidad de crecimiento, Padmani y col. en la realización de nuevas referencias antropométricas en 975 recién nacidos de 23- 29 semanas de edad gestacional en cuatro unidades de cuidado intensivo neonatal de estado de Michigan el promedio en la ganancia de peso por semana fue 111g, talla 1.4cm y perímetro cefálico 0.99cm (25)

En un estudio realizado por Ehrenkantz y col. el cual se analiza en 1660 pacientes de 500 a 1500g de peso, se observo que incluso los pacientes sanos no lograron alcanzar los niveles de crecimiento intrauterino, y que los pacientes en estado crítico presentan un crecimiento aun más lento.



La ganancia de peso en promedio fue de 14.4 y 16.1g/kg/d, talla 0.9cm /semana perímetro cefálico 0.9cm/semana. (26) Otros estudios al valorar el crecimiento postnatal han reportado también disminución de la percentila al egresar del hospital, por ejemplo, en un estudio retrospectivo de 810 recién nacidos con peso muy bajo al nacer de 1990-1994, la incidencia de talla al nacimiento por debajo de la percentila 10 según la curva de la Lubchenco fue de 22.7% y 35.9% al egreso del hospital (27). Recientes informes del Instituto Nacional del Desarrollo de Niños y Humanos, indica que 16% de los recién nacidos con peso extremadamente bajos al nacer son pequeños para la edad gestacional, pero para las 36 semanas de edad corregida 89% tiene falla en el crecimiento, el seguimiento a 18 a 19 meses de edad gestacional corregida muestra que 40% aun tienen peso, talla y perímetro cefálico menor al percentil 10 (28).

Hasta el momento se cuenta con el 40 % de la muestra calculada y aún por recolectar. De esta muestra el 50% de los recién nacidos reclutados se han colocado por debajo del percentil 10 a su egreso por lo que se piensa que bien puede deberse a la morbilidad asociada así como a la prematurez o bien el estrés oxidativo este contribuyendo o sea el principal factor de riesgo para el subcrecimiento.

## CONCLUSIONES

Considerando que la desnutrición pudiera asociarse a un estado oxidoreducción alterado en el recién nacido de muy bajo peso al nacimiento se ha podido constatar en los pacientes que se han reclutado hasta el momento que el 50% egresaron con déficit de peso para edad gestacional según las tablas de Lubchenco. En este grupo se encontró que el retraso en el inicio de la vía enteral se asoció a un riesgo mayor de egreso con peso para edad gestacional por debajo de la percentila 10. Las variables intervinientes creemos que no fueron un factor determinante en alterar el crecimiento ya que los pacientes incluidos no presentaron patología grave, por lo que se piensa que el estrés oxidoreducción alterado pudiera ser el factor principal en la falta de incremento ponderal.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. American Academy of Pediatrics, Committee on Nutrition. Nutritional needs of low birth weight infants. *Pediatrics* 1985; 75(5):976-86
2. Carlberg, I and Mannervick, B. Glutathion reductase. *Methods Enzymol*, 113: 484-490, 1985
3. Saugstad OD. Hypoxanthine as a indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production. *Pediatr Res.* 1988; 23: 143-150.
4. Buhimschi IA, Buhimschi CS, Pupkin M, Weiner C. Beneficial impact of termn labor: Nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstetr Gynecol* 2003;189: 181-188
5. Rogers S, Witz G, Anwar M, Hiatt M, Hegyi T. Antioxidant capacity and oxygen radical diseases in the newborn preterm. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2000; 154: 544 – 548.
6. Carru C., Deiana L., Sotgia S., Pes GM. y Zinellu A. Plasma thiols oxido-reducción status by laser- Induced fluorescence capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 2004, 25, 882–889.
7. Carrol MJ, Young M. The relationship between placental protein synthesis and transfer of Aminoacids. *Biochem. J.* 1983; 210: 99-105.
8. Milner RDG, Hill DJ. Fetal growth control: The role of insulin and related peptides. *Clin. Endocrinol.* 1984; 21: 415-33.
9. Casey P, Kraemer C, Bernbaum J. Growth patterns of low birth weight preterm infant; a Longitudinal analysis of a large varied sample. *J Pediatr* 1990; 117: 298-307.
10. Chandra RK. Fetal malnutrition and postnatal immunocompetence, *Am. J. Dis. Child.* 1975; 129: 450-4.
11. Cooke RW, Foulder-Hughes L. Growth impairment in the very preterm and cognitive and motor performance al 7 years. *Arch Dis Child* 2003;88(6):482-7.

12. Corish CA, Protein – energy under nutrition in hospital in patients. Br J Nutr, 2000; 83: 575 – 591.
13. Crowther, J.R. The ELISA guidebook. Meth Mol Biol 149: 1-413, 2001
14. Fields, R and Dixon, HB. Micro method for determination of reactive carbonyl groups in Proteins and peptides, using 2,4-dinitrophenylhydrazine. Biochem. J. 1971; 121: 587-9.
15. [Gitler C, Zarmi B, Kalef E, Meller R, Zor U, Goldman R.](#) Calcium-dependent oxidation of Thiooxido-reducciónin during cellular growth initiation. Biochem Biophys Res Commun. 2002 18; 290(2):624-8.
16. Gupta, P., Narang, M., Banerjee, BD. and Basu S. Oxidative stress in term small for Gestational age neonates born to undernourished mothers: a case control study. BMC Pediatr. 2004; 4:14.
17. Guzmán JB, Villalobos AG, Cordero GG. Enfermedad neonatal crónica y velocidad de Crecimiento en neonatos con muy bajo peso al nacimiento. Bol Med Hosp Infant Mex, 2001; 58: 455-462.
18. **Guzmán JB. Tesis de Maestría en Investigación Clínica: «Eficacia y seguridad de la Alimentación parenteral temprana hiperprotéica en neonatos». Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de México, Mayo 2006.**
19. Habicht JP. Estandarización de métodos epidemiológicos cuantitativos sobre el terreno. Bol Oficina Sanit Panam 1974; 375
20. Hack M, Breslau N, Weissman B, Aram D, Klein N, Borawski E. Effect of very low birth weight and subnormal head size on cognitive abilities at school age. N Engl J Med. 1991; 325:231-7.
21. Hayakawa M, Okumura A, Hayakawa F et al. Nutritional state and growth and functiona
22. Hashim MJ, Common issues in the Care of Sick Neonates, Am Fam Physician, 2002; 66: 1685.
23. Hwang C. et al. Oxidized oxido-reducción state of glutathione in the endoplasmic reticulum.

24. Soderberg, A., Sahaf, B. and Rosen, A. tioredoxina-reducciónin reductase, a oxido-reducción-active selenoprotein, is secreted by normal and neoplastic cells: presence in human plasma. *Cancer Research*, 60: 2281-2289, 2000.
25. Padmani Karna. Kevin B. Anthropometric measurements for neonates, 23 to weeks gestation, in the 1990. *Pediatric and Perinatal Epidemiology*, 19, 215-226.
26. Ehrenkranz RA. Younes N, Lemons J. longitudinal growrth the of hospitalizedvery low birth weight infants. *Pediatrics* 1999; 104: 280-9.
27. Anna M. Dusick, Brenda B., Growth Failure in the preterm infant: Can we catch up? *Seminars in perinatology*, Vol 27, No 4(august), 2003: pp 302-310

## ANEXO 1

### REQUERIMIENTOS NUTRIMENTALES

**TABLA 1. Electrolitos séricos**

Aporte parenteral	mEq / kg / día
Sodio	2 - 4
Potasio	2 – 3
Cloro	2 – 3 (incluido en cloruro de sodio)

**TABLA 2. Diferencias en cuanto la edad gestacional y aporte**

Aporte de electrolitos	Calcio (mEq/k/día )	Fósforo (mEq/k/día )	Magnesio (mEq/k/día )
Prematuros	1.41 – 2.35	1.8 – 2.7	0.25 – 0.5
A termino	1.41 – 1.88	1.8 – 2.7	0.25 – 0.5

**TABLA 3. Recomendaciones de micro nutrientes**

Vitamina A (UI)	Vitamina D 2 (UI)
1245	247

**TABLA 4. Recomendaciones vitamínicas**

Vitamina E	Vitamina B1	Vitamina B2	Vitamina B6	Niacinamida	Ac. Pantotenico
0.6 mg	0.24 mg	0.24 mg	0.12 mg	2.4 mg	0.24 mg

**TABLA 5. Recomendaciones nutrimentales para Elementos traza.**

Elementos traza	Zinc	Cobre	Selenio	Cromo	Manganeso	Molibdeno	Yodo
Mcgr/Kg/día	400	20	2	0.2	1	0.25	1

**TABLA 6. Recomendaciones hídricas**

Día	1	2	3	4	5	6	7 y >
cc / k / día	70	70 - 80	80 – 90	90 – 100	100 – 120	120 – 150	150 >

## ANEXO 2

### EXPEDIENTE CLÍNICO

Número de expediente: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_ Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_

Fecha de egreso: \_\_\_\_\_ Turno de nacimiento: \_\_\_\_\_

Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_ Peso al nacer: \_\_\_\_\_ gr.

Edad gestacional por FUM: \_\_\_\_\_ SDG. Estancia Hospitalaria: \_\_\_\_\_  
Días.

### Antecedentes Gineco – Obstétricos

Edad materna: \_\_\_\_\_ Gesta: \_\_\_\_\_ Para: \_\_\_\_\_ Cesárea: \_\_\_\_\_

Aborto: \_\_\_\_\_ Tabaquismo: \_\_\_\_\_ Alcoholismo: \_\_\_\_\_

Otras Adicciones: \_\_\_\_\_

Embarazo múltiple: \_\_\_ Gemelos \_\_\_ Trillizos \_\_\_ Cuatrillizos \_\_\_ # Producto  
\_\_\_

Preeclampsia: \_\_\_\_\_ EHE: \_\_\_\_\_ DM gestacional: \_\_\_\_\_ Nefropatía: \_\_\_\_\_

Cardiopatía: \_\_\_\_\_ Hipotiroidismo \_\_\_\_\_ Hipertiroidismo auto inmune \_\_\_\_\_

Sangrado transvaginal del segundo y/o tercer trimestre: \_\_\_\_\_

Corioamnionitis confirmada \_\_\_\_\_

### Morbilidad del paciente:

Retraso en el crecimiento intrauterino: \_\_\_\_\_ Simétrico \_\_\_ Asimétrico \_\_\_\_\_

Apgar \_\_\_ / \_\_\_\_\_

Hipoglucemia (<40 mg/dl) \_\_\_\_\_ Hiperglucemia (> 120 mg/dl) \_\_\_\_\_

Sepsis temprana (3 días) \_\_\_\_\_

SDR \_\_\_\_\_ grado I a II \_\_\_\_\_ grado III a IV \_\_\_\_\_

Sepsis tardía (infección > 4 días) \_\_\_\_\_ Meningitis \_\_\_\_\_

Endocarditis \_\_\_\_\_ Enterocolitis necrosante \_\_\_\_\_ Grado 1 A \_\_\_\_\_

Grado II A y B \_\_\_\_\_ Grado III \_\_\_\_\_ Perforación \_\_\_\_\_

## ANEXO 2

Insuficiencia renal aguda \_\_\_\_\_ Persistencia de Conducto arterioso \_\_\_\_\_

Fuga aérea \_\_\_\_\_ Neumotórax \_\_\_\_\_ Neumomediastino \_\_\_\_\_  
Neumopericardio \_\_\_\_\_ Uso de sello pleural \_\_\_\_\_

Enfermedad pulmonar crónica \_\_\_\_\_ Hemorragia \_\_\_\_\_ Grado máximo:  
\_\_\_\_\_

Edema cerebral: \_\_\_\_\_ Leucomalacia periventricular \_\_\_\_\_

Surfactante \_\_\_\_\_ Dosis \_\_\_\_\_ mg/Kg/dosis. Número de dosis \_\_\_\_\_.  
tipo de surfactante \_\_\_\_\_

### **Nutrición**

Fecha de inicio de NPT: \_\_\_\_\_

Fecha de fin de NPT: \_\_\_\_\_

Tiempo para iniciar NPT (hrs.): \_\_\_\_\_

Duración de NPT (días): \_\_\_\_\_

Tiempo de inicio de VE (días): \_\_\_\_\_.

Tiempo para llegar a 120 Kcal./kg/día (días): \_\_\_\_\_

Tiempo para llegar a 150 Kcal./kg/día (días): \_\_\_\_\_

Líquidos por NPT (ml/kg/día) = (líquidos por NPT/peso)

Líquidos por VE (ml/Kg/día) = (líquidos por VE/peso)

Energía por NPT = calorías por carbohidratos + calorías por lípidos + calorías  
por proteínas.

Energía por VE = líquidos por VE x calorías/ml



## ANEXO 2

### Registro de Variables Nutrimientales

Día	Fecha	CHOS (g/kg/día)	Lípidos (g/kg/día)	Proteínas (g/kg/día)	E. NPT (Kcal/kg/d)	Líquidos NPT (ml)	Líquidos V.E (ml)	Energía V.E (Kcal./kg/día)	Energía Total (Kcal./kg/día)
0									
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									
32									
33									
34									

Líquidos por NPT (ml/kg/día) = (líquidos por NTP/peso)

Líquidos por VE (ml/Kg/día) = (líquidos por VE/peso)

Energía por NPT = calorías por carbohidratos + calorías por lípidos + calorías por proteínas.

Energía por VE = líquidos por VE x calorías/ml

## ANEXO 2

### EVALUACIÓN ANTROPOMÉTRICA

Pérdida máxima: \_\_\_\_\_% Perdida máxima \_\_\_\_\_ días

Recuperación de peso al nacimiento: \_\_\_\_\_ días.

Percentil de peso al nacimiento \_\_\_\_\_ Percentil de peso al egreso  
\_\_\_\_\_.

Percentil de talla al nacimiento \_\_\_\_\_ Percentil de talla al egreso  
\_\_\_\_\_.

Percentil de PC al nacimiento \_\_\_\_\_ Percentil de PC al egreso \_\_\_\_\_.

**VMC** = (peso actual (g) – peso anterior (g)) / ((peso actual (g) + peso anterior (g)/ 2)/7)

**PGNAC** = (peso actual (g)) – peso al nacer (g) / (peso al nacer (g)) \* 100

**PGEP**= (peso actual (g)) – peso anterior (g) / (peso anterior (g)) \* 100

**Porcentaje de pérdida Máxima** = (peso al nacimiento – peso de pérdida máxima) x 100 / peso al nacimiento.

Los percentiles se expresaran de la siguiente manera:

P<10 cuando el percentil sea inferior a 10

P10-25 cuando el percentil sea de 10 a 24

P25-50 cuando el percentil sea de 25 a 49

P50-75 cuando el percentil sea de 50 a 74

P75-90 cuando el percentil sea de 75 a 89

P>90 cuando el percentil sea 90 o mayor.

## ANEXO 2

### DATOS DE LA RESERVA DE ANTIOXIDANTES

Día	Fecha	Tioredoxina-reductasa	Glutación	Carbonilos por 2-4 dinitrofenilhidrazina	Determinación lipoperoxidación a través 4-hidroxyonenal
0	Al nac.				
1					
2					
3					

#Semana	Fecha	Peso(g)	Talla (cm.)	PC (cm.)	VMC (g/Kg/día)	PGNAC	PGEP	Percentil peso
Nacimiento					-----			
1								
2								
3								
4								
Promedio								-----
Egreso								

**ANEXO 3**  
**Crecimiento Intrauterino Estándar para Peso**

Edad gestacional (semanas)	Peso promedio (gramos)	Crecimiento Intrauterino Estándar (Peso)				
		Percentiles				
		P10	P25	P50	P75	P90
24	904	530	660	840	1025	1260
25	961	605	740	880	1070	1305
26	1001	685	830	955	1140	1360
27	1065	770	925	1045	1220	1435
28	1236	860	1025	1150	1340	1550
29	1300	960	1140	1270	1485	1690
30	1484	1060	1250	1395	1645	1840
31	1590	1170	1380	1540	1815	2030
32	1732	1290	1520	1715	2020	2280
33	1957	1440	1685	1920	2290	2600
34	2278	1600	1880	2200	2595	2940
35	2483	1800	2130	2485	2870	3200
36	2753	2050	2360	2710	3090	3390
37	2866	2260	2565	2900	3230	3520
38	3025	2430	2720	3030	3360	3640
39	3130	2550	2845	3140	3435	3735
40	3226	2630	2930	3230	3520	3815
41	3307	2690	2990	3290	3580	3870
42	3308	2720	3010	3300	3610	3890

**ANEXO 4**  
**Crecimiento Intrauterino Estándar para Talla**

Edad gestacional (semanas)	Talla Promedio (cm.)	Crecimiento Intrauterino Estándar (Talla)				
		Percentiles				
		P10	P25	P50	P75	P90
26	36.5	30.8	32.9	35.5	37.5	39.9
27	37.0	31.8	34.1	36.6	38.6	41.0
28	38.5	33.0	35.5	37.8	39.8	42.2
29	39.0	34.4	36.8	39.0	40.9	43.1
30	40.5	36.1	38.3	40.3	42.2	44.5
31	41.4	37.5	39.7	41.6	43.5	45.9
32	43.5	38.8	41.1	43.2	45.0	47.2
33	44.8	39.9	42.3	44.7	46.2	48.4
34	45.2	41.0	43.4	45.8	47.3	49.4
35	46.8	42.0	44.6	46.7	48.1	50.2
36	47.5	43.1	45.6	47.4	48.8	50.9
37	47.8	44.1	46.5	48.0	49.3	51.3
38	48.5	44.9	47.1	48.4	49.8	51.7
39	48.9	45.5	47.6	48.8	50.1	52.0
40	49.4	45.8	47.9	49.3	50.5	52.3
41	49.6	46.0	48.1	49.5	50.8	52.6
42	49.8	46.2	48.2	49.7	51.0	52.8

## ANEXO 5

### Crecimiento Intrauterino Estándar para Perímetro Cefálico

	Perímetro Cefálico promedio (cm.)	Crecimiento Intrauterino Estándar (Perímetro Cefálico)				
		Percentiles				
		P10	P25	P50	P75	P90
26	26.1	22.4	23.6	25.2	26.9	28.5
27	26.1	23.2	24.4	25.8	27.2	28.9
28	26.9	24.3	25.4	26.7	28.0	29.4
29	27.9	25.3	26.4	27.6	28.8	30.2
30	28.9	26.2	27.4	28.6	29.7	31.1
31	29.8	26.9	28.2	29.6	30.5	31.9
32	30.1	27.6	29.0	30.4	31.4	32.7
33	31.5	28.4	29.8	31.2	32.1	33.4
34	31.9	29.2	30.6	31.9	32.9	34.0
35	32.4	30.0	31.3	32.5	33.4	34.5
36	32.9	30.6	31.8	32.9	33.8	34.9
37	33.2	31.1	32.3	33.2	34.1	35.2
38	33.4	31.4	32.5	33.4	34.3	35.4
39	33.6	31.6	32.8	33.7	34.6	35.7
40	33.8	31.8	33.0	34.0	34.8	35.9
41	34.1	32.0	33.2	34.2	35.0	36.0
42	34.2	32.1	33.4	34.3	35.1	36.2

## ANEXO 6

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DE PARTICIPANTES AL PROTOCOLO

#### **“Caracterización del estrés oxidativo en prematuros con muy bajo peso al nacimiento según su velocidad de crecimiento en la fase hospitalaria”**

**Número de Autorización : 19031**

México, DF., a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_

En el Instituto Nacional de Perinatología, se está llevando a cabo un estudio de investigación sobre el diagnóstico y gravedad de la desnutrición neonatal secundaria a la prematuridad. La mejora en los avances de la nutrición enteral y parenteral, promueven una exitosa recuperación en la mayoría de los casos. Sin embargo estas medidas no son siempre efectivas, ya que existen factores que limitan el beneficio de los programas de alimentación. Por lo que el presente estudio trata de identificar lo más temprana y oportunamente, las alteraciones en un neonato con una muy baja recuperación del peso. El beneficio mayor para su hijo es el mejorar el pronóstico en la recuperación de peso y en su salud, por lo tanto menos complicaciones y menos estancia hospitalaria. Las presentes metas se identificarán a través de recabar 1 mililitro de orina durante toda su estancia en el hospital, 1 mililitro de sangre obtenida de la placenta, 1 mililitro de sangre al mes de edad y 1 mililitro de sangre una semana antes de que se egrese a su domicilio.

Todos los resultados que se obtienen son absolutamente confidenciales y solo serán informados a usted, y con éstos resultados se podrá conocer el beneficio de corregir la desnutrición severa y crónica en muchos prematuros con los mismos problemas que su hijo. En el presente estudio, la información de las muestras de orina y de sangre derivadas del ingreso de su hijo, no tendrán costo extra para usted, sólo se solicita su autorización.

Usted puede decidir que su hijo no continúe con el estudio en el momento que desee sin que por ello se vea afectada la atención médica de su hijo (a) por el hospital. Si usted tiene alguna duda antes de aceptar ó durante el estudio estamos en la mejor disposición de aclararla en el tercer piso de la torre de investigación de este hospital, el Dr. José Guzmán Bârcenas.

Yo \_\_\_\_\_

Después de haber leído y después que se me explicaron los riesgos y beneficios, acepto que mi hijo (a) participe en éste estudio.

Nombre (bebé)

\_\_\_\_\_  
Registro

\_\_\_\_\_  
Domicilio:

\_\_\_\_\_  
Teléfonos:

\_\_\_\_\_  
Testigo:

\_\_\_\_\_  
Testigo: