



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
LABORATORIO DE CRONOBIOLOGÍA CLÍNICA Y  
EXPERIMENTAL



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA 3  
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA  
DIVISION DE PEDIATRÍA  
DEPARTAMENTO DE NEONATOLOGÍA

**CARACTERIZACIÓN DE RITMOS CIRCADIANOS, DE VARIABLES BIOLÓGICAS Y  
NIVELES DE MELATONINA Y CORTISOL EN NEONATOS PRETÉRMINO  
(RESULTADOS PRELIMINARES)**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

PRESENTA:

DONAJÍ HEREDIA GARCÍA

TUTORES:

DRA. LUISA SÁNCHEZ GARCÍA  
JEFE DEL SERVICIO DE PEDIATRÍA  
UMAE, HGO 3, CMN LA RAZA

DR. MANUEL ÁNGELES CASTELLANOS  
LABORATORIO DE CRONOBIOLOGÍA Y METABOLISMO  
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA, FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

NÚMERO DE REGISTRO: R-2014-3504-35

MEXICO, D.F., AGOSTO DE 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

Dra. Donají Heredia García

Médico Residente de Ginecología y Obstetricia, UMAE, HGO 3, CMN La Raza

Tel. 57245900

email: donahg@hotmail.com

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

Dra. Luisa Sánchez García

Jefe de la División de Pediatría. UMAE, HGO 3, CMN La Raza

Tel. 57245900 ext. 2374

Email: lsanchezg60@hotmail.com

INVESTIGADOR ASOCIADO:

Dr. Manuel Ángeles Castellanos

Laboratorio de Cronobiología y Metabolismo

Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, UNAM

Tel. 56232422 ext, 45062

email: atatu3@hotmail.com

LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN:

Área de Prematuros, Departamento de Neonatología, División de Pediatría de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Gineco Obstetricia 3, Centro Médico Nacional la Raza.

Laboratorio de Cronobiología y Metabolismo, Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México

## FIRMAS DE AUTORIZACIÓN

---

Dr. Juan Carlos Hinojosa Cruz

Director en Educación e Investigación en Salud.

UMAE, HGO 3, CMN La Raza, IMSS.

---

Dra. María Guadalupe Veloz Martínez.

Jefe de la División en Investigación en Salud

UMAE, HGO 3, CMN La Raza, IMSS.

---

Dra. Verónica Quintana Romero.

Jefe de la División de Educación en Salud

UMAE, HGO 3, CMN La Raza, IMSS.

---

Dra. Luisa Sánchez García

Investigador responsable de la tesis.

Jefe de la División de Pediatría

UMAE, HGO 3, CMN La Raza, IMSS.

---

Dr. Manuel Ángeles Castellanos

Investigador asociado

Laboratorio de Cronobiología y Metabolismo

Departamento de Anatomía, Facultad de Medicina, UNAM

## DEDICATORIA

A los maestros que durante mi vida académica han influido con sus lecciones y experiencias para lograr mi formación integral.

A mi familia, amigos y colegas.

## AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Luisa Sánchez García por su interés, tutoría y apoyo incondicional en el protocolo.

Al Dr. Manuel Ángeles por contagiarme de su ímpetu e interés en la investigación.

A la Dra. Guadalupe Veloz por su apoyo incondicional, tutoría, consejo y revisiones, por apasionarse con cada protocolo como si fuera propio.

Al personal de enfermería que colabora durante la realización del protocolo, por facilitar los campos quirúrgicos y supervisar el desarrollo de los procesos de alternancia de luz obscuridad.

Al personal de archivo médico por facilitar los expedientes para la recolección de datos.

A mis familiares, compañeros y amigos que fueron mi apoyo y motivación durante la realización del protocolo.

Gracias.



## ÍNDICE

Contenido	Página
Resumen	9
Marco Teórico	14
Planteamiento del problema	16
Objetivos	17
Hipótesis	18
Material y Métodos	18
Variables del estudio	24
Análisis estadístico	26
Aspectos éticos	27
Recursos, financiamiento y factibilidad	28
Resultados	29
Discusión	38
Conclusión	39
Agradecimientos	39
Referencias Bibliográficas	40
Anexo 1. Carta de Consentimiento Informado	43
Anexo 2. Hoja de Identificación y Antecedentes	48
Anexo 3. Hoja de captación de información	50
Anexo 4. Cronograma de actividades	52

## RESUMEN

### TITULO DEL PROCOTOLO

Caracterización de ritmos circadianos, de variables biológicas y niveles de melatonina y cortisol en neonatos pretérmino.

### ANTECEDENTES

La rotación de la Tierra produce ciclos predecibles en la alternancia de luz/oscuridad y en la temperatura en nuestro ambiente natural, en respuesta, se ha favorecido la evolución de mecanismos de medición temporal conocidos como relojes biológicos, dentro de estos se encuentran el sistema circadiano [del latín circa, cerca de, y dies, día],<sup>1</sup> el cual es encargado de generar ritmos biológicos y sincronizarlos al medio ambiente.

Se define como Ritmo Biológico, a la repetición regular de una variable biológica a lo largo del tiempo,<sup>1</sup> como ejemplos tenemos: el ritmo cardiaco, respiratorio, de glucemia, del sueño/vigila, de producción y secreción hormonal. De acuerdo al ciclo ambiental al que se le relaciona, se pueden clasificar como: circanuales, cercano a un año; circa-lunares, cercano al ciclo lunar (28 días), circamaréales o circatidales, cercano a las mareas (12 horas). Circadianos, frecuencia cercana a un día (24 hrs.). De acuerdo a su frecuencia de presentación en relación al día se clasifican en: ultradianos, frecuencia mayor a los circadianos, por ejemplo los ritmos circatidales; e infradianos, frecuencia menor a los circadianos, por ejemplo los circa lunares, cada 28 días.

Los ritmos biológicos circadianos son ritmos generados de manera endógena, con un periodo de aproximadamente 24 hrs.<sup>1</sup> El reloj biológico responsable de generar estos ritmos es el núcleo supraquiasmático (NSQ) del hipotálamo.<sup>2</sup> Se sabe que los ritmos

circadianos se desarrollan antes del nacimiento y que el núcleo supraquiasmático se encuentra presente desde la mitad de la gestación.<sup>3, 4</sup> Recientemente se encontró que, el sistema circadiano de los infantes primates responde a la luz a muy tempranas edades y que la intensidad baja de luz puede regular el desarrollo del reloj biológico. Después del nacimiento hay una progresiva maduración del sistema circadiano, principalmente en el ciclo de sueño vigilia y secreción hormonal establecida hacia los 2 meses de edad.

El sistema circadiano es responsable de la generación y regulación de los ritmos circadianos, este sistema neurológico consiste de un reloj biológico con vías aferentes y eferentes.<sup>1</sup> El par de núcleos supraquiasmáticos, se encuentran situados en el área anterio-inferior del hipotálamo situados sobre el quiasma óptico, en la base del tercer ventrículo,<sup>5, 6</sup> exhiben una ritmicidad endógena, en su tasa de disparo neuronal con un periodo de oscilación cercano a 24 hrs. La ritmicidad de 24 horas puede ser vista también en la expresión rítmica de genes, conocidos como genes reloj, *per*, *clock*, *time*, los cuales se encuentran en las células del núcleo NSQ. Las oscilaciones del núcleo supraquiasmático, no son exactamente cada 24 hrs., es necesario mantener sincronizado el reloj con el medio ambiente para prevenir oscilaciones endógenas del reloj (*free-running*) o se encuentre fuera de fase con los ciclos externos de luz/oscuridad. Las vías aferentes o de sincronización llevan la información fótica desde la retina hacia el núcleo supraquiasmático para sincronizar las oscilaciones del reloj a ciclos de luz/oscuridad de 24 horas. La vía de sincronización principal que va desde la retina hasta el NSQ es el tracto retinohipotalámico, que conecta a las neuronas ganglionares tipo W situadas en la retina con las neuronas de la región ventral del NSQ, esta vía es independiente de la vía visual. Se ha demostrado que es necesario para la sincronización fótica el neurotransmisor glutamato, que media la acción del tracto retinohipotalámico.<sup>7</sup> Las vías eferentes son las responsables de la expresión de los ritmos circadianos, describiéndose

las hipotálamicas y no hipotálamicas. Las vías eferentes del sistema circadiano también regulan la producción rítmica de diversas hormonas, incluyendo la melatonina y el cortisol.<sup>5, 6, 8, 9, 10</sup> Aunque se considera el NSQ como el reloj maestro, se ha encontrado que muchos tejidos periféricos contienen también relojes circadianos que también juegan un rol crítico en el control local de la fisiología y el metabolismo.<sup>11, 12, 13, 14, 15, 16</sup> Por ejemplo, en el hígado hay ritmos circadianos en la expresión de genes involucrados en el metabolismo energético, el heme y la biosíntesis de la glutamina, y la detoxificación de drogas.<sup>17</sup> De tal manera que una sincronización adecuada y una relación de fase estable entre el reloj y sus efectores o los relojes periféricos, favorecen el proceso de mejoría en una gran cantidad de trastornos fisiológicos e incluso enfermedades.

## OBJETIVO

Conocer los ritmos circadianos de variables fisiológicas y de los niveles de cortisol y melatonina en neonatos pretérmino en medio hospitalario, clasificados en dos grupos distintos de exposición de luz: un grupo de luz habitual y un grupo con alternancia de ciclos luz/oscuridad.

## MATERIAL Y MÉTODOS

**PACIENTES ESTUDIADOS:** Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas en el momento de inclusión en el estudio, y clínicamente estables que se encuentren hospitalizados en los servicios de Prematuros, aleatoriamente asignados a 2 grupos: Grupo I (Experimental) y Grupo II (controles).

Se asignó en forma aleatoria en ambos grupos. Al grupo I (experimental) se expuso a ciclos alternos de luz/oscuridad de la siguiente manera: de 08:00 hrs. a 20:00 hrs con la misma intensidad de luz que el grupo II -luz habitual del servicio- y de 20:00 a 08:00 hrs

con disminución de la intensidad de la luz a menos de 30 Lux. Esta disminución en la intensidad de la luz se logró colocando un campo quirúrgico sobre el casco cefálico, incubadora o cuna abierta, según fue el caso para cada recién nacido. El grupo II se mantuvo con exposición a luz habitual (ambiente hospitalario).

En ambos grupos se realizó la toma de signos vitales (frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura), así como la toma de muestra de saliva en dos ocasiones durante el día (09:00 y 21:00 hrs) para la posterior determinación de cortisol y melatonina en saliva y cuantificación diaria exacta de peso. La información fue capturada en los formatos diseñados por los investigadores. Se realizó un análisis univariado con cálculo de frecuencia simple para variables cualitativas. Para las cuantitativas se calcularon medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la distribución de las variables.

## RESULTADOS

Se analizaron 27 prematuros, 13 para el Grupo I o experimental y 14 para el Grupo II o control. Ambos grupos fueron homogéneos acorde a edad gestacional estimada por Capurro (0.993), peso al nacimiento (0.463), talla (0.023), perímetro cefálico (0.742).

La ganancia de peso total durante la estancia intrahospitalaria fue en promedio de 93.8 g para el grupo I, y de 2.85 g para el grupo II. Con una ganancia máxima de 720 g para el Grupo I y de 470 g para el Grupo II. En el Grupo I la pérdida ponderal máxima fue de 200 g y en el Grupo II de 290 g, sin embargo no fue estadísticamente significativo.

Los días de estancia intrahospitalaria de los neonatos del Grupo I fueron en promedio 15.6, con una estancia máxima de 38 días y mínima de 3 días. En el Grupo II, el promedio de días de estancia intrahospitalaria fue de 12, con una estancia mínima de 2 días y máxima de 29 días.

Los niveles de melatonina salival en ambos grupos fueron parecidos, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa.

## CONCLUSIONES

La alternancia de los ciclos luz/oscuridad no influye en la regulación de constantes vitales, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura, ganancia ponderal, melatonina salival.

No hay diferencia estadísticamente significativa en los días de estancia intrahospitalaria entre los grupos estudiados.

## RECURSOS E INFRAESTRUCTURA

El estudio se realizó en el Departamento de Neonatología de la División de Pediatría del Hospital de Gineco Obstetricia 3, Centro Médico Nacional la Raza.

Participaron en el estudio un Neonatólogo, un residente de Ginecología y Obstetricia, y un Investigador del Laboratorio de Cronobiología y Metabolismo de la UNAM.

Recursos financieros: La papelería utilizada para el estudio y el equipo necesario para la concentración de la información y el análisis de la misma fue proporcionado por los investigadores. Las tiras reactivas para la medición de los niveles salivales de cortisol y melatonina fueron proporcionadas por los investigadores.

## EXPERIENCIA DEL GRUPO

Se ha realizado el presente estudio en dos sedes hospitalarias por parte del investigador asociado del Laboratorio de Cronobiología y Metabolismo de la Facultad de Medicina, UNAM.

## TIEMPO A DESARROLLARSE.

Se estimó un tiempo de 5 meses para realizar el estudio, contando con 4 meses para la captura de pacientes y realización del estudio.

## MARCO TEÓRICO

Un gran número de recién nacidos pretérmino son hospitalizados por periodos prolongados de tiempo. Se han estudiado patrones de actividad en recién nacidos, así como frecuencia cardíaca, temperatura, y sueño,<sup>4</sup> sin embargo la caracterización de ritmos circadianos ha sido complicada, algunos estudios han revelado la presencia de ritmos ultradianos en este tipo de pacientes.<sup>18, 19</sup> Actualmente los ritmos circadianos en los neonatos no se han estudiado totalmente, la razón probablemente es que el alimento y el contacto físico influyen en dichas variables, enmascarando la detección de ritmos circadianos.

Después del descubrimiento de que en los primates prematuros, el reloj circadiano responde a la luz, se examinaron los efectos de la sincronización fótica en humanos neonatos pretérmino<sup>20</sup>. En estos estudios, el desarrollo de la reactivación de patrones fue examinado en recién nacidos pretérmino quienes fueron expuestos a luz continua o ciclos de baja intensidad antes de egresarlos del hospital. Se observó una sincronía más rápida con el medio exterior y la aparición de ritmos circadianos en aquellos neonatos con ciclos alternados de luz. En el Stanford Cycled Lighting Study, no fueron detectadas diferencias de ritmos circadianos en los infantes que fueron expuestos de manera temprana a luz continua o a ciclos de luz antes de su egreso.<sup>18, 19, 21</sup>

Mann<sup>22</sup> encontró que la exposición a ciclos de luz/oscuridad antes de su egreso, en recién nacidos pretérmino resultaron en una mejor ganancia de peso y mayor duración del sueño

durante las 24 horas del día, en los niños con alternancia de luz/oscuridad, a diferencia de los que se encontraron con patrones caóticos de luz. Considerando la dificultad para detectar actividad circadiana en RN pretérmino, el potencial mecanismo por el cual la luz puede influir en el crecimiento de prematuros no está claro.<sup>23, 24</sup>

Estudios previos han sugerido que la ritmicidad no es aparente en el RN pretérmino, hasta después de un mes posterior al nacimiento, equivalente a más de 42 SDG, estas conclusiones han sido basadas sobre cuantificaciones durante 24 a 48 horas de temperatura rectal, y/o patrones continuos de reposo/actividad.<sup>18, 19, 21, 25</sup> Sin embargo se ha encontrado que la fase circadiana puede ser detectada en recién nacidos quienes fueron expuestos a ciclos de luz tan temprano como 34 semanas de gestación, utilizando actímetros conectados a un monitor que registraba los patrones de reposo/actividad.<sup>20</sup> Se encontró que las diferencias de actividad pueden ser detectadas desde varias semanas antes, siendo posible detectar ritmos circadianos en la temperatura corporal utilizando un termómetro interno.<sup>4</sup> También se ha comprobado, que el ambiente con luz constante puede contribuir a enfermedades del ojo en infantes prematuros.<sup>26</sup> Algunos investigadores proponen un Programa Asistencial de desarrollo de Cuidados Neonatales Individualizados, sugieren que dado que el ambiente uterino es oscuro, los infantes pueden desarrollarse mejor en un ambiente oscuro.<sup>27</sup> Se postula que, prenatalmente el infante está expuesto a los ritmos de la madre con lo cual sincroniza su reloj con los ciclos de luz oscuridad externos.<sup>3</sup>

El uso de luz constante en la mayoría de los servicios de hospitalización en todo el mundo no tiene base científica.<sup>28</sup> La evidencia indica que los sistemas de tiempos circadianos son un sistema fundamentalmente homeostático, es decir “cronostático”, que influye potentemente sobre el desarrollo humano. Después del nacimiento, entre 1 y 3 meses de edad, hay una progresiva maduración del sistema circadiano con ritmos día/noche en



actividad y desarrollo de secreción hormonal. Evidencia reciente muestra que los sistemas circadianos de infantes primates responden a la luz a muy tempranas edades y que la luz de baja intensidad puede regular el desarrollo del reloj. De tal manera que no es anticipada, la consideración de que la biología circadiana llegara a ser un importante componente de los cuidados neonatales.

## JUSTIFICACION

Existen pocos estudios relacionados con la descripción de los ciclos circadianos en los recién nacidos, mas aún en aquellos recién nacidos pretérmino.

Los estudios que se han reportado acerca de la alternancia de los ciclos luz/obscuridad en recién nacidos pretérmino y si existe algún beneficio de los mismos, son pocos, además que por el tamaño de la muestra utilizada, no son extrapolables a nuestra población.

El desarrollo de este estudio es importante, ya que de documentar que la alternancia de los ciclos luz/obscuridad en recién nacidos pretérmino puede sincronizar los ritmos circadianos, y el metabolismo, lo que clínicamente se pudiera ver reflejado en la ganancia ponderal y crecimiento; los días de estancia intrahospitalaria de los recién nacidos pretérmino y de bajo peso, podrían ser reducidos, a su vez, disminuyendo los costos del hospital y favoreciendo el apego del binomio de manera más temprana.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido al incremento de la morbilidad materno perinatal y el aumento de nacimientos de RN pretérmino por causas maternas, en nuestra sede, encontramos un gran número de RN pretérmino o con bajo peso al nacer, los cuales se mantienen

hospitalizados por largos periodos de tiempo, con la finalidad de mejorar el peso y mantenerse estables en las constantes vitales.

Se han realizado estudios en los cuales se ha sugerido que la exposición de los RN pretérmino a ciclos de luz/oscuridad, favorece el incremento de peso y el crecimiento intrahospitalario.

De poder acelerar dichos procesos, los días de estancia intrahospitalaria de los RN podrán ser reducidos, así mismo, los costos del hospital, además que se favorecerá el apego del binomio.

¿Cuáles son las características de los ritmos circadianos de variables fisiológicas y de los niveles de cortisol y melatonina en neonatos pretérmino? ¿Existen dichos ritmos en los pacientes estudiados?

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Conocer los ritmos circadianos de variables fisiológicas y de los niveles de cortisol y melatonina en neonatos pretérmino en medio hospitalario, clasificados en dos grupos distintos de exposición de luz: un grupo de luz habitual y un grupo con alternancia de ciclos luz/oscuridad.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Caracterización de ritmos circadianos de variables biológicas en neonatos de menos de 37 SDG corregidas sin patología grave, en medio hospitalario.

2. Identificar las modificaciones en las variables fisiológicas (frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura, ganancia ponderal, melatonina y cortisol salival) que produce un ciclo luz/oscuridad sobre los ritmos de variables fisiológicas previamente caracterizados en los pacientes de un grupo control con luz habitual.
3. Comparar el tiempo de estancia intrahospitalaria en neonatos menores de 37 SDG corregidas que fueron expuestos a ciclos de luz/oscuridad 12/12 y luz habitual.

## HIPÓTESIS

Los neonatos pretérmino bajo luz habitual no mostrarán un patrón circadiano de las variables fisiológicas y de los niveles de cortisol y melatonina, en cambio el ciclo luz/oscuridad permitirá la presencia de un ciclo circadiano de estas variables.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### UBICACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en el Departamento de Neonatología de la División de Pediatría del la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Gineco Obstetricia 3, Centro Médico Nacional La Raza, el cual es un centro de tercer nivel de atención que otorga asistencia médica a la población derechohabiente que proviene de la sección Norte y Poniente del Distrito Federal, así como Estado de México, Querétaro e Hidalgo.

### CLASIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Diseño del estudio: Ensayo clínico controlado aleatorizado.

### TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra se calculó para la comparación de proporciones, dada una frecuencia en el grupo 1 de 60% y del grupo 2 de 80%, con un intervalo de confianza del 95%, y una potencia de prueba del 80%, se requerirán de 81 pacientes para cada grupo. En total serán 162 pacientes que se incluirán en el estudio final.

#### PACIENTES ESTUDIADOS:

Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas en el momento de inclusión en el estudio, y clínicamente estables que se encuentren hospitalizados en el servicio de Prematuros, aleatoriamente asignados a 2 grupos:

Grupo I (Experimental): recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, con exposición a ciclos alternos de luz/oscuridad de la siguiente manera: de 08:00 hrs. a 20:00 hrs con la misma intensidad de luz que el grupo II (habitual) y de 20:00 a 08:00 hrs con disminución de la intensidad de la luz a menos de 30 Lux. Esta disminución en la intensidad de la luz se logró colocando un campo quirúrgico sobre el casco cefálico, incubadora o cuna abierta, según fue el caso para cada recién nacido.

Grupo II (controles): recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, con exposición a luz habitual (ambiente hospitalario).

#### ASIGNACIÓN A GRUPOS:

Se asignaron en forma aleatoria a recién nacidos para el grupo control o el grupo experimental usando una tabla de números aleatorios, el investigador principal enroló a los pacientes y supervisó las condiciones de luz. Los investigadores quienes analizaron e interpretaron los datos fueron vetados para el tratamiento de los grupos.

## GRUPO I y II.

### CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, en el momento de inclusión en el estudio, que se encuentren hospitalizados en el servicio de Prematuros, del Servicio de Neonatología del Hospital de Gineco Obstetricia 3, con enfermedad clasificada como no grave.

Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, en el momento de inclusión en el estudio, que se encuentren hospitalizados en el servicio de Prematuros, del Servicio de Neonatología del Hospital de Gineco Obstetricia 3, sin enfermedad agregada, clasificados como estables.

Firma de carta de consentimiento informado del padre o tutor.

### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, en el momento de inclusión en el estudio, que se encuentren hospitalizados en el servicio de Prematuros del Servicio de Neonatología del Hospital de Gineco Obstetricia 3, con enfermedad clasificada grave.

Cuando no se cuente con la firma de carta de consentimiento informado del padre o tutor.

### CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, en el momento de inclusión en el estudio, que se encuentren hospitalizados en el servicio de Prematuros, del Servicio de Neonatología del Hospital de Gineco Obstetricia 3, con enfermedad clasificada como no

grave, quienes evoluciones de manera no satisfactoria, progresando a enfermedad clasificada como grave.

Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, en el momento de inclusión en el estudio, que se encuentren hospitalizados en el servicio de Prematuros, del Servicio de Neonatología del Hospital de Gineco Obstetricia 3, sin enfermedad agregada, clasificados como estables, quienes evoluciones de manera no satisfactoria, progresando a enfermedad clasificada como grave.

Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, en el momento de inclusión en el estudio, que se encuentren hospitalizados en el servicio de Prematuros, del Servicio de Neonatología del Hospital de Gineco Obstetricia 3, con enfermedad clasificada como no grave, que una vez dentro del estudio, los padres decidan retirarlo del mismo.

Recién nacidos menores de 37 SDG corregidas, en el momento de inclusión en el estudio, que se encuentren hospitalizados en el servicio de Prematuros y Nutrición Parenteral, del Servicio de Neonatología del Hospital de Gineco Obstetricia 3, sin enfermedad agregada, clasificados como estables, que una vez dentro del estudio, los padres decidan retirarlo del mismo.

#### CONDICIONES DE LUZ.

A todos los pacientes seleccionados se les elaboró un cuestionario de antecedentes familiares y perinatales. El grupo experimental fue expuesto a alternaciones de luz/oscuridad de la siguiente manera: de las 08:00 hrs. a las 20:00 hrs se mantuvo con luz habitual y de 20:00 hrs. a 08:00 hrs. se modificó la luz a menos de 30 luxes; el grupo control permaneció con luz habitual durante las 24 hrs. La disminución de la intensidad

de la luz en el grupo experimental se logró colocando un campo quirúrgico sobre el casco cefálico, incubadora o cuna abierta, según fue el caso para cada recién nacido.

## DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

A todos los pacientes seleccionados se les llenó un cuestionario de antecedentes familiares y perinatales. El grupo experimental se expuso a alternaciones de luz/oscuridad de la siguiente manera: de las 08:00 hrs. a las 20:00 hrs se mantuvo con luz habitual y de 20:00 hrs. a 08:00 hrs. se modificó la luz a menos de 30 luxes; el grupo control permaneció con luz habitual durante las 24 hrs. La disminución en la intensidad de la luz del grupo experimental se logró colocando un casco cefálico cubierto con un campo quirúrgico. La medición de la intensidad de la luz fue realizada con un medidor digital de luminosidad (luxómetro) HER-410 Steren.

En ambos grupos se ofreció alimentación a los neonatos cada 3 horas, con leche maternizada. La toma de signos vitales (frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura) se realizó dos veces por turno, las muestras de saliva para las determinaciones de cortisol y melatonina en saliva se realizaron en dos ocasiones durante el día (09:00 y 21:00 hrs), la cuantificación de peso se realizó diario. La administración de medicamentos con horario y toma de muestras para diferentes exámenes de laboratorio indispensables a los pacientes que por su enfermedad subyacente así lo requerían, se realizó de manera habitual.

Se tomaron los signos vitales de la manera habitual en que se realiza en el servicio, reportándose en la hoja diaria de enfermería así como en la hoja de captación de información diseñada por los investigadores. El peso se tomó diariamente con la misma

báscula digital utilizada en el Departamento de Neonatología. Los datos fueron reportados inmediatamente en la hoja de captación de información diseñada por los investigadores.

La toma de muestras de saliva para la medición de melatonina y cortisol salival se realizó dos veces por día. Se tomó la muestra directamente de la boca del neonato, con el material proporcionado por los investigadores (pipetas desechables de 2 ml), en un aproximado de 50 a 100 microlitros por toma, fueron almacenadas en viales de plástico de 200 microlitros de capacidad, inmediatamente posterior a la toma se mantuvieron en congelación a -20°C y fueron descongeladas a temperatura ambiente al momento de la medición.

La medición de melatonina se realizó mediante ELISA, utilizando el kit IBL International Melatonin direct Saliva ELISA. Con el siguiente procedimiento:

1. Se pipetearon 100 microlitros de las soluciones estándar en los ocho respectivos pozos de las placas microtiter, y 100 microlitros de saliva en los 88 pozos restantes, correspondiendo un pozo para cada muestra de saliva.
2. Se pipetearon 50 microlitros de la solución antisuero en cada pozo. Las placas fueron cubiertas con láminas adhesivas y agitadas cuidadosamente durante 10 segundos.
3. Se incubaron a 2 – 8 °C durante 48 horas
4. Se removieron las láminas adhesivas, se desechó la solución de incubación y se realizaron 4 lavados con 250 microlitros de solución buffer diluida al 1:20 con agua destilada.
5. Se pipetearon 100 microlitros de solución de biotina en cada pozo y las placas se cubrieron con láminas adhesivas.
6. Se incubaron durante 2 horas a 18-25 °C en un agitador orbital a 300 rpm



7. Se removieron las láminas adhesivas, se desechó la solución de incubación y se realizaron 4 lavados con 250 microlitros de solución buffer diluida al 1:20 con agua destilada.
8. Se pipetearon 100 microlitros de enzima conjugada en cada pozo y las placas se cubrieron con láminas adhesivas.
9. Se incubaron durante 1 hora a 18 – 25 °C en un agitador orbital a 300 rpm
10. Se removieron las láminas adhesivas, se desechó la solución de incubación, y se realizaron 4 lavados con 250 microlitros de solución buffer diluida al 1:20 con agua destilada.
11. Se pipetearon 100 microlitros de solución de sustrato TMB en cada pozo y las placas se cubrieron con láminas adhesivas.
12. Se incubaron durante 15 minutos a 18 – 25 °C en un agitador orbital a 300 rpm.
13. Se detuvo la reacción del sustrato añadiendo 100 microlitros de solución de parada de TMB en cada pozo, se agitó suavemente, tornándose las muestras a color amarillo.
14. Se realizó la medida de la densidad óptica con un fotómetro a 450 nm 15 minutos después de pipetear la solución de parada.

## VARIABLES DEL ESTUDIO

### INDEPENDIENTES

Exposición a luz.

### DEPENDIENTES

Tiempo de estancia intrahospitalaria

Ganancia ponderal diaria y total

Numero de días de estancia hospitalaria

Cuantificación de Melatonina en saliva

Cuantificación de Cortisol en saliva

Frecuencia Cardíaca

Frecuencia Respiratoria

Temperatura corporal

#### DEFINICIÓN OPERACIONAL DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	MEDICIÓN	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN
Tiempo de estancia intrahospitalaria	Tiempo transcurrido entre el ingreso del neonato al protocolo de estudio y el egreso a su domicilio	Días	Hoja de concentrado de información
Ganancia ponderal diaria	Peso que incrementa diariamente el neonato en estudio	Gramos	Hoja de concentrado de información
Ganancia ponderal Total	Peso que incrementó el neonato durante su estancia intrahospitalaria	Gramos	Hoja de concentrado de información

Cuantificación de cortisol en saliva	Determinación de Cortisol en saliva	mg/dl	Tiras reactivas
Cuantificación de Melatonina en saliva	Determinación de Melatonina en saliva	mg/dl	Tiras reactivas
Frecuencia cardiaca	Numero de latidos cardiacos por minuto	Numero de latidos por minuto	Clínico, consignado en Hoja de concentrado de información
Frecuencia Respiratoria	Numero de ciclos respiratorios por minuto	No de respiraciones por minuto	Clínico, consignado en Hoja de concentrado de información
Temperatura corporal	Temperatura corporal del neonato en estudio	grados centígrados	Termómetro de mercurio, determinación axilar

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó análisis univariado con cálculo de frecuencia simple para variables cualitativas. Para las cuantitativas se calcularon medidas de tendencia central y dispersión de acuerdo a la distribución de las variables. Para comparar variables cuantitativas entre grupos se realizó la prueba de Levene para la igualdad de varianzas, y la prueba de T de Student para la igualdad de medias.

El análisis fue realizado por el investigador asociado y por la jefa de División en Investigación, mediante Excel y SPSS 20.0, ambos investigadores desconocían a que grupo pertenecía cada muestra.

## ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio fue presentado al Comité de Ética de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Gineco Obstetricia 3 del Centro Médico Nacional La Raza para su validación y consideraciones éticas, siendo autorizado el 05 de junio de 2014 con el número de registro R-2014-3504-35

Todos los procedimientos están de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en éste caso del siguiente artículo y título de dicha ley:

ARTICULO 17.- Se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio. Para efectos de este Reglamento, las investigaciones se clasifican en las siguientes categorías:

II. Investigación con riesgo mínimo: Estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnósticos o tratamiento rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, pruebas de agudeza auditiva; electrocardiograma, termografía, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, colección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva, dientes deciduales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimiento profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml. en dos meses, excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos, pruebas psicológicas a individuos o grupos en

los que no se manipulará la conducta del sujeto, investigación con medicamentos de uso común, amplio margen terapéutico, autorizados para su venta, empleando las indicaciones, dosis y vías de administración establecidas y que no sean los medicamentos de investigación que se definen en el artículo 65 de este Reglamento, entre otros

#### RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

Recursos humanos: Participaron en el estudio un neonatólogo, un residente de ginecología y obstetricia, y un investigador del Laboratorio de Cronobiología y Metabolismo de la UNAM.

Recursos financieros: La papelería utilizada para el estudio y el equipo necesario para la concentración de la información y el análisis de la misma fue proporcionado por los investigadores. Los insumos para la toma de muestras de saliva y almacenamiento, así como las tiras reactivas para la medición de los niveles salivales de cortisol y melatonina fueron proporcionadas por los investigadores.

## RESULTADOS

Al momento del corte del estudio se habían incluido 52 prematuros, 26 en el Grupo I Y 26 en el Grupo II, se eliminaron 3 del Grupo I y 6 del Grupo II ya que progresaron a enfermedad grave.

Para el análisis estadístico se incluyeron los prematuros que se han egresado del servicio, con un total de 27 prematuros, 13 para el Grupo I o experimental y 14 para el Grupo II o control.

El 100% de las madres de los neonatos tuvo control prenatal a partir del primer trimestre. Grupo I (13) y Grupo II (14).

Para el Grupo I, el 30.7% (n=4) de las madres de los neonatos fueron primigestas y el 69.3% (n=9) multigestas. Para el Grupo II, el 7.1% (n=1) de las madres de los neonatos fueron primigestas y el 92.9% (n=13) multigestas.

El 69.3% (n=9) de las madres de los neonatos del Grupo I y el 42.85% (n=6) del Grupo II recibieron corticoides prenatales como inductores de madurez pulmonar. El 30.7% (n=4) de las madres de los neonatos del Grupo I y el 57.15% (n=8) del Grupo II no recibieron corticoides prenatales como inductores de madurez pulmonar.

El 38.5% (n=5) de las madres de los neonatos del Grupo I y el 21.42% (n=3) del Grupo II presentaron preeclampsia. El 61.5% (n=8) de las madres de los neonatos del Grupo I y el 78.57% (n=11) del Grupo II no presentaron preeclampsia.

Ninguna de las madres de los neonatos del Grupo I ni del Grupo II presentaron eclampsia.

El 7.6% (n=1) de las madres de los neonatos del Grupo I y el 21.4% (n=3) del Grupo II presentaron Diabetes durante la gestación. El 92.4% (n=12) de las madres de los neonatos del Grupo I y el 78.6% (n=11) del Grupo II no presentaron Diabetes durante la gestación.

Ninguno de los recién nacidos del Grupo I y del Grupo II presentaron sufrimiento fetal agudo.

El 100% (n=13) de los prematuros del Grupo I se obtuvieron por cesárea, y en el Grupo II 92.9% (n=13) de los prematuros nacieron por cesárea y 7.1% (n=1) por parto eutócico.

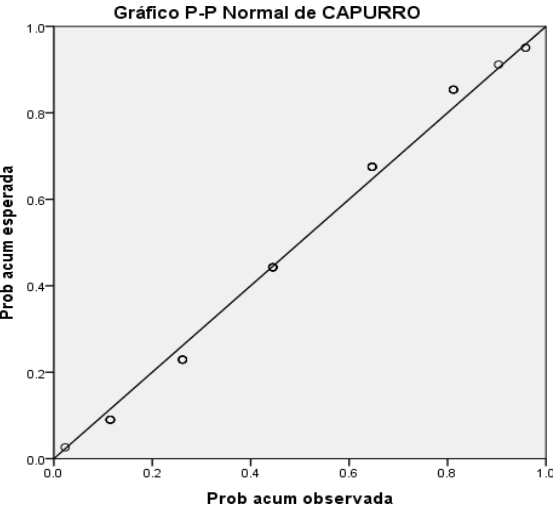
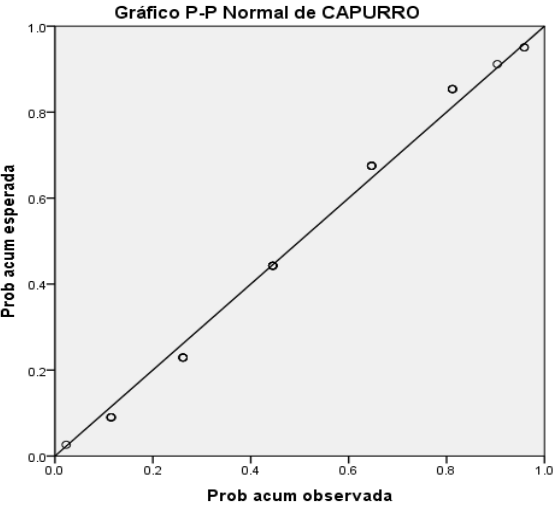
Dentro del Grupo I, el 30.7% (n=4) de las madres de los neonatos, tuvieron ruptura prematura de membranas, y en el Grupo II 28.6% (n=4). En el 69.3% (n=9) para el Grupo I y el 71.4% (n=10) para el Grupo II, la ruptura de membranas fue al momento del nacimiento.

El 53.85% (n=7) del Grupo I y el 64.3% (n=9) del Grupo II de los neonatos, fueron de sexo femenino. El 46.15% (n=6) del Grupo I y el 35.7% (n=5) del Grupo II de los neonatos fueron de sexo masculino.

La talla de los neonatos al nacimiento para el Grupo I fue en promedio de 42 cm, con una talla mínima de 40 cm y una talla máxima de 46 cm. Para el Grupo II, el promedio de la talla al nacimiento fue de 43.5 cm, con una talla mínima de 40 cm y máxima de 47 cm.

El perímetro cefálico al nacimiento, fue en promedio de 30.9 cm para los neonatos del Grupo I, con una máxima de 33.5 cm y mínima de 28 cm. Para el Grupo II, el promedio del perímetro cefálico al nacimiento fue de 30.8 cm, con una máxima de 33 cm y una mínima de 28 cm.

La edad gestacional calculada por Capurro para el Grupo I fue en promedio de 34 semanas, con una máxima de 36 semanas y mínima de 31 semanas. Para el Grupo II la edad gestacional calculada por Capurro fue en promedio de 34.4 semanas, con un máximo de 36.6 semanas y un mínimo de 32 semanas.

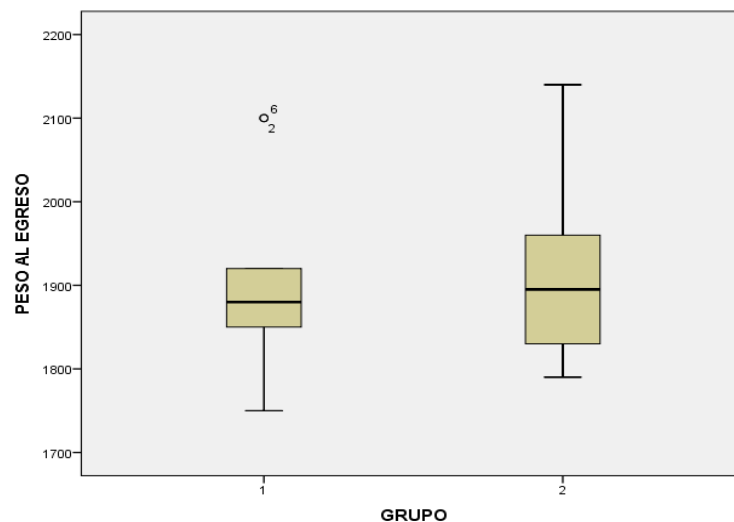




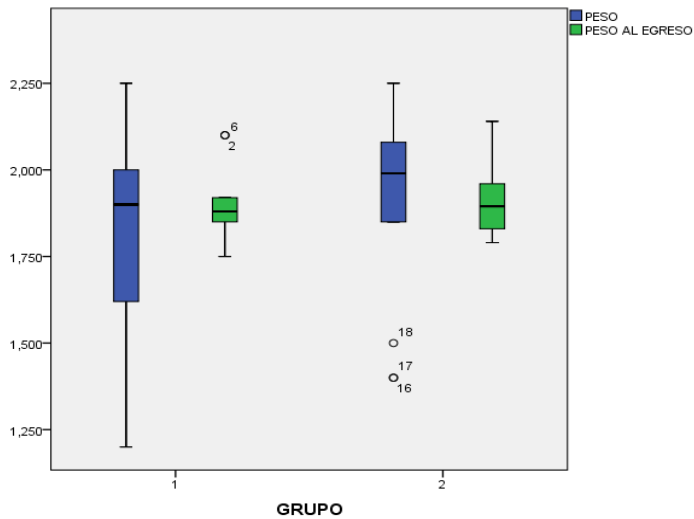
El APGAR al minuto y a los 5 minutos, fue en promedio de 7.62 y 8.77 para el Grupo I, con una mínima de 6 y una máxima de 8. Y para el grupo II, el promedio fue de 7.57 y 8.71, con una mínima de 8 y máxima de 9.

El peso de los neonatos al nacimiento para el Grupo I fue en promedio de 1801 g, con un peso mínimo de 1200 g y un peso máximo de 2250 g. Para el Grupo II, el promedio del peso al nacimiento fue de 1903 g, con un peso mínimo de 1400 g y un peso máximo de 2250 g.

El peso de los neonatos al egreso hospitalario para el Grupo I fue en promedio de 1801 g, con un peso mínimo de 1200 g y un peso máximo de 2250 g. Para el Grupo II, el promedio del peso al egreso hospitalario fue de 1903 g, con un peso mínimo de 1400 g y un peso máximo de 2250 g.



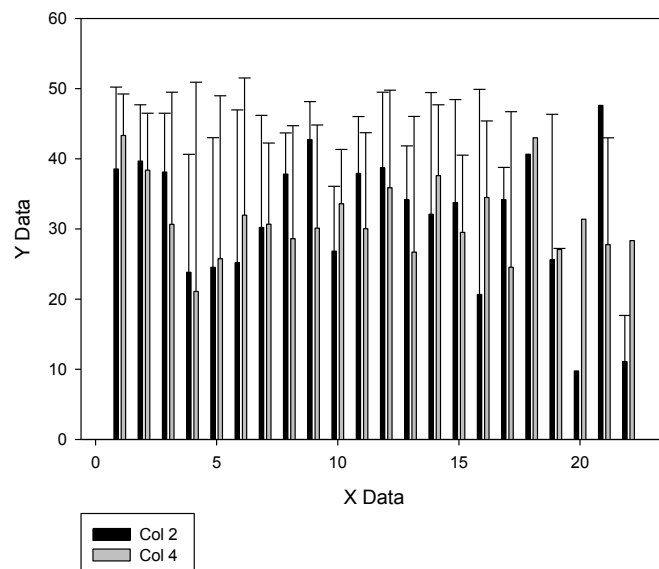
La ganancia de peso total durante la estancia intrahospitalaria fue en promedio de 93.8 g para el grupo I, y de 2.85 g para el grupo II. Con una ganancia máxima de 720 g para el Grupo I y de 470 g para el Grupo II. En el Grupo I la pérdida ponderal máxima fue de 200 g y en el Grupo II de 290 g.



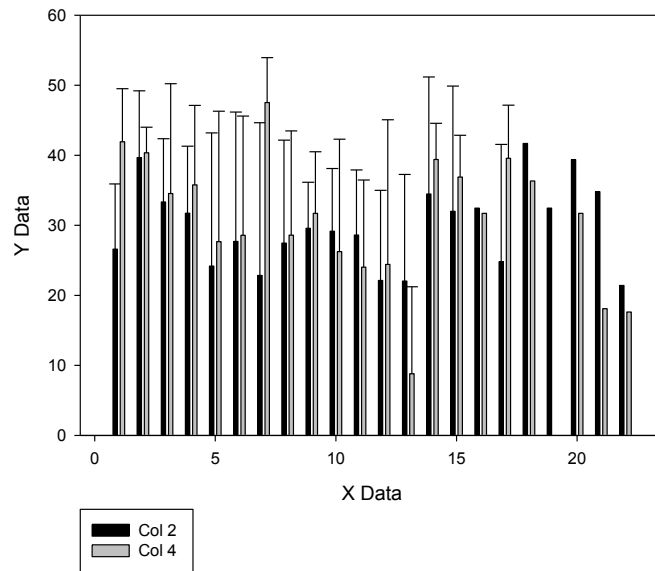
Los días de estancia intrahospitalaria de los neonatos del Grupo I fueron en promedio 15.6, con una estancia máxima de 38 días y mínima de 3 días. En el Grupo II, el promedio de días de estancia intrahospitalaria fue de 12, con una estancia mínima de 2 días y máxima de 29 días.

Los niveles de melatonina salival en ambos grupos fueron parecidos, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa.

Melatonina Grupo 1



Melatonina Grupo 2



No fue posible realizar la medición de cortisol en el grupo presentado, ya que de las muestras de saliva analizadas únicamente alcanzaron para realizar la medición de melatonina, quedando muestra insuficiente para la medición de cortisol. En el siguiente grupo, se deberán tomar 100 microlitros como mínimo en cada muestra de saliva para poder realizar las determinaciones de cortisol y melatonina en todos los neonatos.

Características de los prematuros incluidos en el estudio

N	Edad Gestacional (Capurro)		Peso al nacimiento (gramos)		Peso al egreso (gramos)		Días de estancia intrahospitalaria	
	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II	Grupo I	Grupo II
1	31	33	1200	2080	1920	1790	37	13
2	35	34	2150	2050	2100	1950	4	3
3	32	33	1620	1400	1810	1840	28	27
4	33	32	1250	1400	1900	1870	38	29
5	36	36.6	1960	1500	1920	1830	3	22
6	36	34	2250	2050	2100	1960	3	7
7	36	34	1900	2100	1850	1920	22	4
8	35	32	1600	1850	1900	1930	18	18
9	34	36	2000	2250	1850	2140	10	2
10	34	34	2050	1980	1850	2000	12	9
11	33	35	1950	1970	1810	1800	10	6
12	35	36.6	1830	2100	1750	1990	3	12
13	32	36.5	1660	1920	1880	1820	15	7
14	-	35	-	2000	-	1850	-	10
Prom	34	34.4	1801.5	1903.5	1895.3	1906.4	15.6	12
Min	31	32	1200	1400	1750	1790	3	2
Max	35	36.6	2250	2250	2100	2140	38	29
D.E.	1.68	1.6	321.58	272.3	102.92	97.23	12.4	8.74

Análisis estadístico por grupo

GRUPO		N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
PESO	1	13	1801.54	321.581	89.190
	2	14	1903.57	272.301	72.775
TALLA	1	13	42.54	1.941	.538
	2	14	43.50	2.066	.552
CAPURRO	1	13	34.000	1.6833	.4668
	2	14	34.464	1.6923	.4523
PC	1	13	30.923	1.6438	.4559
	2	14	30.821	1.6362	.4373
PESO AL	1	13	1895.38	102.925	28.546
EGRESO	2	14	1906.43	97.239	25.988
APGAR 1'	1	13	7.62	.650	.180
	2	14	7.57	.646	.173
APGAR 5'	1	13	8.77	.439	.122
	2	14	8.71	.469	.125

Análisis estadístico por grupo y por variable

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error tít. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
PESO	Se han asumido varianzas iguales	.555	.463	-.892	25	.381	-102.033	114.385	-337.614	133.548
	No se han asumido varianzas iguales			-.886	23.630	.384	-102.033	115.114	-339.814	135.748
TALLA	Se han asumido varianzas iguales	.023	.880	-1.244	25	.225	-.962	.773	-2.554	.631
	No se han asumido varianzas iguales			-1.247	24.995	.224	-.962	.771	-2.550	.627
CAPURRO	Se han asumido varianzas iguales	.000	.993	-.714	25	.482	-.4643	.6502	-1.8033	.8747
	No se han asumido varianzas iguales			-.714	24.872	.482	-.4643	.6500	-1.8034	.8748
PC	Se han asumido varianzas iguales	.111	.742	.161	25	.873	.1016	.6316	-1.1992	1.4025
	No se han asumido varianzas iguales			.161	24.834	.873	.1016	.6317	-1.1998	1.4031
PESO AL EGRESO	Se han asumido varianzas iguales	.060	.808	-.287	25	.777	-11.044	38.520	-90.377	68.289
	No se han asumido varianzas iguales			-.286	24.561	.777	-11.044	38.604	-90.623	68.535
APGAR 1'	Se han asumido varianzas iguales	.022	.882	.176	25	.862	.044	.250	-.470	.558
	No se han asumido varianzas iguales			.176	24.826	.862	.044	.250	-.471	.558
APGAR 5'	Se han asumido varianzas iguales	.399	.534	.314	25	.756	.055	.175	-.306	.416
	No se han asumido varianzas iguales			.315	24.997	.756	.055	.175	-.305	.415

## DISCUSIÓN

Los resultados parciales obtenidos muestran dos grupos homogéneos, sin diferencia estadísticamente significativa en las constantes vitales, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura, cantidad de alimento ingerido, ni ganancia de peso total entre ambos grupos.

Observamos que todos los recién nacidos tienden a tener una pérdida ponderal los primeros días de su hospitalización, siendo esta menor en el grupo experimental que en el grupo control. Así mismo, la ganancia ponderal total fue mayor en el grupo experimental que en el control, sin embargo al momento el resultado no es estadísticamente significativo.

Los estudios reportados en la literatura y los realizados previamente con el investigador asociado, han reportado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos.

No hubo diferencia estadísticamente significativa en los días de estancia intrahospitalaria entre los grupos estudiados.

Los niveles de melatonina fueron similares en ambos grupos, sin embargo dentro del grupo experimental, hubo 4 prematuros que recibieron fototerapia durante su internamiento, lo que puede alterar los resultados obtenidos al momento.

Consideramos que los resultados aun no son concluyentes por el tamaño de la muestra presentada. Deberá realizarse el análisis estadístico con una muestra mayor para poder determinar el impacto de las acciones de la alternancia de luz/oscuridad en los recién nacidos prematuros.

Así mismo consideramos que por tratarse de un hospital de tercer nivel y de concentración, y dado el tipo de patologías asociadas que se manejan en el binomio, deberá indagarse e incluso formar parte del criterio de inclusión alguna patología neonatal que si bien pudiera considerarse no grave, pueda condicionar por su historia natural, alteración en los parámetros analizados.

## CONCLUSIÓN

La alternancia de los ciclos luz/oscuridad no influye en la regulación de constantes vitales, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura, ganancia ponderal, melatonina salival.

No hay diferencia estadísticamente significativa en los días de estancia intrahospitalaria entre los grupos estudiados.

## AGRADECIMIENTOS

Los insumos utilizados para el desarrollo de este protocolo fueron solventados por las becas de DGAPA IN-209712 e IN-205809.

El desarrollo del protocolo fue posible gracias a la Dra. Luisa Sánchez García. Jefe de la División de Pediatría, UMAE, HGO3, CMN La Raza.

Un agradecimiento especial al personal médico y de enfermería del servicio de Pediatría por su colaboración durante el desarrollo del protocolo.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Panda S, Hogenesch JB, Kay SA. Circadian rhythms from flies to human. *Nature*. 2002; 417:329–335.
2. Weaver DR. The suprachiasmatic nucleus: a 25-year retrospective. *J Biol Rhythms*. 1998; 13:100–112.
3. Reppert SM, Weaver DR, Rivkees SA. Maternal communication of circadian phase to the developing mammal. *Psychoneuroendocrinology*. 1988; 13(1–2):63–78.
4. Rivkees SA. Developing circadian rhythmicity. Basic and clinical aspects. *Pediatr Clin North Am*. 1997; 44:467–487.
5. Moore-Ede MC, Czeisler CA, Richardson GS. Circadian timekeeping in health and disease. Part 1. Basic properties of circadian pacemakers. *N Engl J Med*. 1983;309:469–476.
6. Moore-Ede MC, Czeisler CA, Richardson GS. Circadian timekeeping in health and disease. Part 2. Clinical implications of circadian rhythmicity. *N Engl J Med*. 1983; 309:530–536.
7. Sadun AA, Schaechter JD, Smith LE. A retinohypothalamic pathway in man: light mediation of circadian rhythms. *Brain Res*. 1984; 302:371–377
8. Kornhauser JM, Mayo KE, Takahashi JS. Light, immediate-early genes, and circadian rhythms. *Behav Genet*. 1996; 26:221–240.
9. Watts AG, Swanson LW, Sanchez-Watts G. Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: I. Studies using anterograde transport of Phaseolus vulgaris leucoagglutinin in the rat. *J Comp Neurol*. 1987; 258: 204–229.
10. Watts AG, Swanson LW. Efferent projections of the suprachiasmatic nucleus: II. Studies using retrograde transport of fluorescent dyes and simultaneous peptide immunohistochemistry in the rat. *J Comp Neurol*. 1987; 258:230–252.

11. Damiola F, Le Minh N, Preitner N, Kornmann B, Fleury-Olela F, Schibler U (2000) Restricted feeding uncouples circadian oscillators in peripheral tissues from the central pacemaker in the suprachiasmatic nucleus. *Genes Dev* 14:2950–2961.
12. Abe M, Herzog ED, Yamazaki S, Straume M, Tei H, Sakaki Y, Menaker M, Block GD (2002) Circadian rhythms in isolated brain regions. *J Neurosci* 22:350–356.
13. Balsalobre A, Damiola F, Schibler U (1998) A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell* 93:929–937.
14. McNamara P, Seo SP, Rudic RD, Sehgal A, Chakravarti D, FitzGerald GA (2001) Regulation of CLOCK and MOP4 by nuclear hormone receptors in the vasculature: a humoral mechanism to reset a peripheral clock. *Cell* 105:877–889.
15. Yoo SH, Yamazaki S, Lowrey PL, Shimomura K, Ko CH, Buhr ED, Siepkas SM, Hong HK, Oh WJ, Yoo OJ, Menaker M, Takahashi JS (2004) PERIOD2:LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:5339–5346.
16. Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, Block GD, Sakaki Y, Menaker M, Tei H (2000) Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 288:682–685.
17. Kornmann B, Preitner N, Rifat D, Fleury-Olela F, Schibler U (2001) Analysis of circadian liver gene expression by ADDER, a highly sensitive method for the display of differentially expressed mRNAs. *Nucleic Acids Res* 29:E51–E51.
18. Glotzbach SF, Edgar DM, Boeddiker M, Ariagno RL. Biological rhythmicity in normal infants during the first 3 months of life. *Pediatrics*. 1994;94:482–488.
19. Glotzbach SF, Edgar DM, Ariagno RL. Biological rhythmicity in preterm infants prior to discharge from neonatal intensive care. *Pediatrics*. 1995; 95:231–237.

20. Rivkees, 2002 SA, Gross I, Mayes L. Influence of cycled lighting on the development of rest-activity patterns in premature infants [abstract]. *Pediatr Res.* 2002; 51:375.
21. Mirmiran M, Ariagno RL. Influence of light in the NICU on the development of circadian rhythms in preterm infants. *Semin Perinatol.* 2000; 24:247–257.
22. Mann NP, Haddow R, Stokes L, Goodley S, Rutter N. Effect of night and day on preterm infants in a newborn nursery: randomised trial. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1986; 293:1265–1267.
23. Rivkees SA, Hao H. Developing circadian rhythmicity. *Semin Perinatol.* 2000; 24:232–242.
24. Mirmiran M, Lunshof S. Perinatal development of human circadian rhythms. *Prog Brain Res.* 1996;111:217–226.
25. McGraw K, Hoffmann R, Harker C, Herman JH. The development of circadian rhythms in a human infant. *Sleep.* 1999;22:303–310.
26. Glass, 1985 P, Avery GB, Subramanian KN, Keys MP, Sostek AM, Friendly DS. Effect of bright light in the hospital nursery on the incidence of retinopathy of prematurity. *N Engl J Med.* 1985;313:401–404.
27. Als H, Lawhon G, Duffy FH, McAnulty GB, Gibes-Grossman R, Blickman JG. Individualized developmental care for the very low-birthweight preterm infant. Medical and neurofunctional effects. *JAMA.* 1994;272:853–858.
28. Ariagno RL, Mirmiran M. Shedding light on the very low birth weight infant. *J Pediatr.* 2001;139:476–477.

## ANEXO 1

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA 3  
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA  
DIVISION DE PEDIATRIA  
DEPARTAMENTO DE NEONATOLOGIA  
FACULTAD DE MEDICINA, UNAM



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“CARACTERIZACIÓN DE RITMOS CIRCADIANOS DE VARIABLES BIOLÓGICAS Y  
NIVELES DE MELATONINA Y CORTISOL EN NEONATOS PRETÉRMINO”

Número de Folio: \_\_\_\_\_

México, D.F. a \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2014

Estimado padre, madre o tutor del paciente, la Dra. Luisa Sánchez García, Jefa del Servicio de Pediatría y la Dra. Donají Heredia García Residente de Ginecología y Obstetricia, realizan un estudio junto con varios médicos del mismo Servicio e Investigadores del Laboratorio de Cronobiología y Metabolismo de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Justificación y objetivo del estudio.

Debido al incremento de las enfermedades y complicaciones de la madre o del feto durante el embarazo, en nuestro hospital tenemos un gran número de recién nacidos

pretérmino o con bajo peso al nacer, los cuales se mantienen hospitalizados por largos periodos de tiempo, con la finalidad de mejorar el peso y mantenerse estables en las constantes vitales.

Se han realizado estudios en los cuales se ha sugerido que la exposición de los recién nacidos pretérmino a ciclos alternados de luz/oscuridad, (parecidos a los que tenemos en casa y en el medio ambiente durante el día y la noche) favorece el incremento de peso y el crecimiento intrahospitalario. De poder acelerar dichos procesos, los días de estancia intrahospitalaria de los recién nacidos podrán ser reducidos.

En el cuerpo humano existen hormonas que ayudan a regular el metabolismo del cuerpo, entre ellas el cortisol y la melatonina, la secreción de estas hormonas en el adulto se ha visto que se encuentra ligada al día y la noche, al momento existen pocos estudios que nos digan como es la secreción en los recién nacidos y el impacto que tengan en el crecimiento y regulación de constantes vitales.

El objetivo del estudio es conocer el beneficio de alternar los ciclos de luz/oscuridad en los pacientes recién nacidos prematuros hospitalizados en el servicio de Prematuros y Nutrición Parenteral, del Servicio de Neonatología del hospital. En la ganancia de peso, en la estabilización de las constantes vitales, así como en la secreción de las hormonas cortisol y melatonina,

Procedimientos.

Se le está invitando a participar en este estudio. Su participación es voluntaria y será confidencial. Si decide participar en este estudio se le llenará un cuestionario de antecedentes gineco-obstétricos maternos así como de antecedentes personales de su familia. Se le realizarán pruebas con alternancia de luz/oscuridad a su hijo recién nacido durante su estancia en este hospital. Para realizar el estudio se ha seleccionado primero,

el lugar conveniente en el hospital, se instalarán dispositivos que ofrezcan menor intensidad de luz a su recién nacido de las 20 a las 08 horas (es decir, durante la noche), y el resto del día, la misma luz utilizada en el servicio de manera habitual, diariamente durante el periodo de estancia intrahospitalaria del recién nacido en el servicio. Para realizar la medición de cortisol y de melatonina se tomarán dos muestras de saliva al día, la cantidad será aproximadamente equivalente a una gota, será obtenida directamente de la boca del recién nacido con un pequeño gotero.

Posibles riesgos y molestias.

El riesgo de estas pruebas es mínimo, hasta el momento no se ha reportado en la literatura ningún tipo de complicación ni por la alternancia de la luz/oscuridad, ni por la toma de la muestra de saliva.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio.

El estudio no tiene ningún costo, tampoco tiene retribución económica alguna. Será realizado por un médico residente que se encuentra en su curso de especialización en Ginecología y Obstetricia y supervisado por los médicos adscritos del Servicio de Neonatología. El procedimiento de la investigación es sencillo, en una sola sesión se le llenarán los cuestionarios. Las alternancias de luz/oscuridad, se le realizarán a su hijo durante su estancia intrahospitalaria.

Es posible que no reciba algún beneficio de manera inmediata, ya que hasta el término del estudio y del análisis de los datos, podremos determinar de que manera influyeron las intervenciones en los recién nacidos. Se hará de su conocimiento el beneficio proporcionado a su hijo.

Participación o retiro.

Si usted no acepta entrar al estudio no alterará en nada la evolución y los cuidados de su hijo aún permaneciendo en la misma sala donde se realizara el estudio.

Usted podrá decidir en cualquier momento si desea retirar a su hijo del estudio, sin que esto afecte en la atención y cuidados de su hijo.

Privacidad y confidencialidad.

Solo los investigadores analizarán toda la información y resultados generados en este estudio. Los datos de la investigación de este estudio serán publicados en revistas científicas pero serán presentados por grupo solamente, en ningún momento se revelará la identidad de los participantes, por lo que los participantes serán identificados por un número y su nombre no será utilizado.

Para la toma de la muestra de saliva (favor de marcar con una cruz):

(  ) NO autorizo que se tome la muestra

(  ) SI autorizo que se tome la muestra

Disponibilidad de tratamiento médico en derechohabientes.

Los cuidados que su hijo requiera por parte de los médicos tratantes en lo que concierne al motivo por el cual se encuentre hospitalizado se realizarán de manera habitual, así como la alimentación y limpieza.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio.

Si usted tiene alguna duda, favor de hacérsela saber a la Dra. Luisa Sánchez García, Jefa del Servicio de Pediatría o a la Dra. Donají Heredia García Residente de Ginecología y Obstetricia, de lunes a viernes de 10:00 a 14:00 horas, o al teléfono 57245900 ext. 23749.

Para aceptar participar en el presente estudio favor de firmar en la línea de abajo.

Nombre y Firma de ambos padres o tutores o representante legal

---

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

---

Testigo 1 Nombre y firma

---

Testigo 2 Nombre y firma

---



## ANEXO 2

### HOJA DE IDENTIFICACIÓN Y ANTECEDENTES



UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD

HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA 3

CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA



DIVISION DE PEDIATRIA

DEPARTAMENTO DE NEONATOLOGIA

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“CARACTERIZACIÓN DE RITMOS CIRCADIANOS DE VARIABLES BIOLÓGICAS Y NIVELES DE MELATONINA Y CORTISOL EN NEONATOS PRETÉRMINO”

### HOJA DE IDENTIFICACIÓN Y ANTECEDENTES

Paciente No:    Sexo      M              F

NSS:    Fecha de Nacimiento:      /      /2014

**Nombre de la madre:**

\_\_\_\_\_

**Dirección:** Calle y número \_\_\_\_\_

**Colonia:** \_\_\_\_\_

Delegación: \_\_\_\_\_ Entidad Federativa: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:** Marcar con una "X" una opción. En caso de no contar con la información dejar el espacio en blanco. Anexar éste formato al expediente clínico del paciente.

**ANTECEDENTES PERINATALES**

CONTROL PRENATAL	SI	NO
PRODUCTO DE PRIMIGESTA	SI	NO
CORTICOIDES PRENATALES	SI	NO
PREECLAMPSIA O ECLAMPSIA	SI	NO
SUFRIMIENTO FETAL AGUDO	SI	NO
EXPULSIVO PROLONGADO O MANIOBRA KRISTELLER	SI	NO
NACIMIENTO POR CESÁREA	SI	NO

APGAR 1' \_\_\_\_\_ APGAR 5' \_\_\_\_\_ PESO AL NACIMIENTO: \_\_\_\_\_ gramos

EDAD GESTACIONAL ESTIMADA POR CAPURRO: \_\_\_\_\_ semanas

**LLENÓ EL CUESTIONARIO:** \_\_\_\_\_

**INVESTIGADORES RESPONSABLES:** Dra. Luisa Sánchez García

Dra. Donají Heredia García

### ANEXO 3

#### HOJA DE CAPTACION DE INFORMACIÓN

UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD



HOSPITAL DE GINECO OBSTETRICIA 3



CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA

DIVISION DE PEDIATRIA

DEPARTAMENTO DE NEONATOLOGIA

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

“CARACTERIZACIÓN DE RITMOS CIRCADIANOS DE VARIABLES BIOLÓGICAS Y NIVELES DE MELATONINA Y CORTISOL EN NEONATOS PRETÉRMINO”

HOJA DE CAPTACION DE INFORMACIÓN								
Paciente No.								
		Sexo	M	F				
NSS:					Fecha	/	/	2014
	<b>08:00</b>	<b>9:00</b>	<b>12:00</b>	<b>16:00</b>	<b>20:00</b>	<b>21:00</b>	<b>24:00</b>	<b>04:00</b>
FRECUENCIA CARDIACA								

FRECUENCIA RESPIRATORIA								
TEMPERATURA								
ALIMENTACIÓN								
CORTISOL EN SALIVA								
MELATONINA EN SALIVA								
NUMERO DE DIAS DE E.H.								
PESO								
OBSERVACIONES:								

**RECABÓ INFORMACIÓN:** \_\_\_\_\_

**INVESTIGADORES RESPONSABLES:** Dra. Luisa Sánchez García

Dra. Donají Heredia García

## ANEXO 4

### CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES					
Actividad	Fecha	2014			
		Febrero - Abril	Mayo	Junio - Julio	Agosto Agosto
Estructuración del proyecto					
Revisión y aceptación por parte del Comité					
Captación de pacientes y realización estudio					
Análisis estadístico de resultados					
Publicación					