



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

TESIS

GENOTOXICIDAD DE LA OXIGENOTERAPIA Y
FOTOTERAPIA MEDIANTE LA PRUEBA DE
MICRONÚCLEOS EN SANGRE PERIFÉRICA DE RECIÉN
NACIDOS PRETÉRMINO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
PEDIATRÍA

PRESENTA:

DRA. ANGÉLICA BARROS HERNÁNDEZ

DIRECTORES DE TESIS:

DR. JOSÉ GUZMÁN BÁRCENAS

D. EN C. GUILLERMO M. ZÚNIGA GONZÁLEZ

DEPARTAMENTO DE NEONATOLOGIA

FEBRERO 2014 MEXICO D.F.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

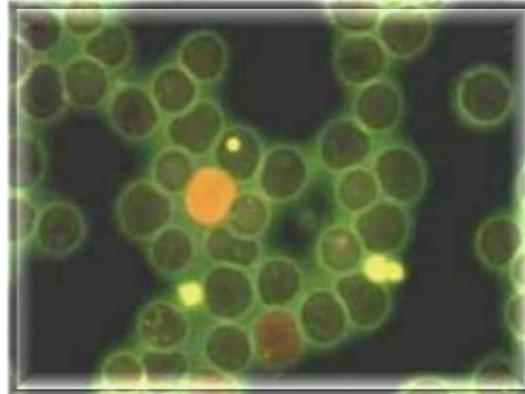
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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.



GENOTOXICIDAD DE LA OXIGENOTERAPIA Y FOTOTERAPIA MEDIANTE LA PRUEBA DE MICRONÚCLEOS EN SANGRE PERIFÉRICA DE RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO



Estudiante: **Dra. Angélica Barros Hernández**

Director de tesis: Dr. José Guzmán Bárcenas, Dr. en C. Guillermo M. Zúñiga González

Colaboradores: Belinda C. Gómez Meda, Ana L. Zamora Perez

Sedes: Hospital Infantil de México "Federico Gómez" y Laboratorio de Mutagénesis, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social

Mayo/2013



GENOTOXICIDAD DE LA OXIGENOTERAPIA Y FOTOTERAPIA MEDIANTE LA PRUEBA DE MICRÓNÚCLEOS EN SANGRE PERIFÉRICA DE RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO

Dra. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO
DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'José Guzmán Bárcenas'.

Dr. JOSÉ GUZMÁN BÁRCENAS
TUTOR DE TESIS
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE NEONATOLOGÍA

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Guillermo Moisés Zúñiga González'.

Dr. en C. GUILLERMO MOISÉS ZÚÑIGA GONZÁLEZ
TUTOR DE TESIS
JEFE DEL LABORATORIO DE MUTAGÉNESIS, CIBO, IMSS
INVESTIGADOR TITULAR B
INVESTIGADOR NACIONAL SNI NIVEL II

DEDICATORIAS

A mis padres, por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como en la vida, por su incondicional apoyo a través del tiempo y a pesar de todas las circunstancias presentadas en esta nueva trayectoria.

A mis tutores, por la enseñanza, la paciencia, la dedicación y el compromiso con este proyecto, indudablemente sin su ejemplo y sus valiosos conocimientos no hubiese sido lo mismo, ni hubiese dejado la misma satisfacción al culminar este trabajo. A mi maestro y gran amigo Dr. Memo a quien admiro inmensamente.

A Belinda y Ana, que siempre han sido un gran ejemplo para mí, por su entusiasmo, su constancia, su tenacidad, su amor por la enseñanza y su total entrega como siempre.

A Dios, por que indudablemente a pesar de las adversidades presentadas me dio la fuerza para seguir adelante, recordándome en cada instante que no estaba sola y que podría vencer cualquier obstáculo.

A los niños, porque en cada una de sus sonrisas encontré una motivación para continuar el recorrido y llegar a la meta, me recordaron siempre que no debía olvidar porque estaba aquí y el objetivo a alcanzar.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos.

Angee Barros

Lo maravilloso de aprender algo es que nadie puede arrebatárnoslo.

B. B King

En cuestiones de cultura y de saber, sólo se pierde lo que se guarda; sólo se gana lo que se da.

Antonio Macha

Libre, y para mi sagrado, es el derecho de pensar....La educación es fundamental para la felicidad social; es el principio en el que descansan la libertad y el engrandecimiento de los pueblos.

Benito Juárez

ÍNDICE

	Página
Portada	1
Firmas	2
Dedicatorias	3
Índice	4
Antecedentes	5
Marco teórico	6-7
Planteamiento del problema	8
Pregunta de investigación	9
Justificación	10
Objetivos	11
Hipótesis	12
Métodos	13-15
Población de estudio	16
Plan de análisis estadístico	17
Descripción de variables	18-19
Resultados del estudio	20-25
Discusión	26-29
Conclusión	30
Cronograma de actividades	31
Referencias bibliográficas	32-34
Limitación del estudio	35
Aspectos éticos	36-37
Anexos	38-41

1. ANTECEDENTES

Los micronúcleos (MN) son fragmentos o cromosomas completos que espontáneamente o por causa de agentes clastógenos o aneuploidógenos, quedan fuera del núcleo en mitosis (Figura 1).

En humanos, los MN son removidos de la circulación principalmente por el bazo. Sin embargo, en los recién nacidos pretérmino (RNP), estas estructuras pueden ser observadas en los eritrocitos de sangre periférica, si bien, estos tienden a disminuir con el paso de los días al madurar el infante. Los RNP presentan un sistema de defensa antioxidante inmaduro por lo que son más susceptibles al estrés oxidativo, promovido por el mayor manejo postnatal que requieren, como la oxigenoterapia y la fototerapia. El oxígeno; en altas concentraciones y presiones, puede resultar tóxico, incrementa el estrés oxidativo y está asociado con diversas alteraciones. Se ha demostrado recientemente mediante un ensayo cometa daño al ADN de leucocitos de infantes a término, expuestos a fototerapia; con lo que surge la pregunta de si la fototerapia y la oxigenoterapia por tiempo de exposición, es capaz de dañar el material genético de los RNP. En el presente se estudiarán muestras de sangre periférica de RNP de entre 26–36 semanas de gestación, expuestos a fototerapia y oxigenoterapia mediante diferentes tipos de lámparas y diversos tipos de apoyo ventilatorio, tomadas a diferentes tiempos a partir del tiempo de exposición y se contarán los eritrocitos micronucleados (EMN) para daño acumulado y los eritrocitos policromáticos micronucleados (EPCMN), que nos reflejan el daño inmediato tras la exposición de la fototerapia y oxigenoterapia.

2. MARCO TEÓRICO

En humanos los EMN son removidos de la circulación principalmente por el bazo, como parte del sistema reticuloendotelial [Corazza *et al.*, 1990]. Sin embargo, en los RNP estas estructuras pueden ser observadas en eritrocitos de sangre periférica [Zúñiga-González *et al.*, 2001, Batista-González *et al.*, 2006], si bien, estos tienden a disminuir con la edad [Zúñiga-González *et al.*, 2001b].

Los sistemas de defensa antioxidantes de los recién nacidos que nacen a término se expresan con un mayor grado de maduración y se adaptan a mayores concentraciones de oxígeno, siendo lo contrario en RNP, quienes presentan un sistema de defensa antioxidante inmaduro que los hace susceptibles al daño que producen especies reactivas de oxígeno, generadas en el período de transición fetal a neonatal [Buhimschi *et al.*, 2003, Ledo *et al.*, 2009], por lo que son más susceptibles al estrés oxidativo, promovido por el mayor manejo postnatal que requieren, como es el caso del uso de nutrición parenteral, procedimientos invasivos, el uso de medicamentos [Mancilla 1992, Baltimore 1998, Ledo *et al.*, 2009], así como de terapias con oxígeno y luz o fototerapia, esta última, en prematuros con ictericia básicamente multifactorial, [Aycicek *et al.*, 2007, Aycicek *et al.*, 2008].

El oxígeno, en concentraciones mayores al 50%, puede resultar tóxico [Speit *et al.*, 2002], con cambios en sistema nervioso [Korkmaz *et al.*, 2008], aparato respiratorio (displasia broncopulmonar) [Weinberger *et al.*, 2002, Oter *et al.*, 2005] y en retina [Cunningham *et al.*, 2000, Weinberger *et al.*, 2002].

Estudios comparativos realizados en neonatos con asfixia perinatal, que requieren resucitación y concentraciones altas con oxígeno (100%), demuestran un mayor incremento en la mortalidad neonatal. Con daño orgánico específico a miocardio, riñón, cerebro y pulmón. Entre los factores asistenciales asociados a mayor

causalidad es el uso indiscriminado de oxígeno y mayor tiempo de reanimación [Vento *et al.*, 2003, Saugstad *et al.*, 2006].

En las alteraciones histológicas y hematológicas se han descrito los siguientes cambios: Mayor intercambio en cromátides hermanas en linfocitos humanos [Eken *et al.*, 2005, Duydu *et al.*, 2006], incremento de MN en cultivos de células V79 [Rothfuss 1999], esto se cree secundario al desequilibrio que produce la mayor producción de radicales libres como respuesta a la desmedida oxigenación. [Eken *et al.*, 2005, Duydu *et al.*, 2006, Oter *et al.*, 2007].

Podría este daño ser temporal, demostrado recientemente en recién nacidos a término expuestos a fototerapia y valorados de nuevo en la etapa preescolar mediante el intercambio de cromátides hermanas, no demostrado aún en prematuros [Hasan Kahveci 2013].

Retomando los estudios de Aycicek *et al.*, (2008), mediante el ensayo cometa que demostró daño al DNA de leucocitos de neonatos a término expuestos a fototerapia, secundario a rompimientos cromosómicos [Rothfuss *et al.*, 1999], que invariablemente dan origen a la formación de MN, proponemos la realización de frotis sanguíneos de RNP que son sometidos a terapia de oxígeno y fototerapia.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Con esto, surge la pregunta de si la fototerapia y oxigenoterapia, utilizado por mayor tiempo de exposición a RNP, pueden dañar el material genético, ocasionando ruptura cromosómica y generando MN.

Por lo anterior, en el presente realizaremos un estudio de la posible genotoxicidad de las lámparas utilizadas para fototerapia y los diferentes tipos de apoyo ventilatorio (oxigenoterapia), siendo los más comúnmente utilizados la intubación orotraqueal en sus diferentes modalidades, casco cefálico, mascarilla facial con reservorio y puntas nasales, en el servicio de Neonatología del Hospital Infantil de México en muestras de sangre periférica de RNP mediante la prueba de MN.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La fototerapia y oxigenoterapia utilizada en RNP, pueden dañar el material genético, ocasionando ruptura cromosómica y generando MN?

5. JUSTIFICACIÓN

El incremento en la producción de radicales libre produce rompimientos cromosómicos y estos a su vez se convierten en MN, estos rompimientos están relacionados con las enfermedades como el desarrollo de cáncer, entre otras, por el daño que se ocasiona al material genético del paciente.

Se ha demostrado que exposiciones a oxígeno inhalado a concentraciones mayores de la ambiental, producen incremento de radicales libres, lo mismo que la exposición a fototerapia, esta última incluso incrementa el daño al ADN de leucocitos de niños a término y los MN en RNP. Por lo que es importante conocer si la fototerapia y oxigenoterapia, pudieran incrementar los EMN de RNP expuestos a este manejo.

6. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Identificar el daño al ADN (rompimientos cromosómicos y generación de MN) de RNP hospitalizados en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Infantil de México Federico Gómez, que son expuestos a terapias de oxígeno y luz.

6.1 Objetivos específicos:

- Identificar genotoxicidad por exposición prolongada de oxigenoterapia (>2 días) en pacientes gravemente enfermos.
- Identificar genotoxicidad en el uso de fototerapia intensiva (fototerapia simple o doble fototerapia mayor a 24 horas) en pacientes gravemente enfermos.

7. HIPÓTESIS

La luz de las lámparas para fototerapia, y la terapia con oxígeno utilizadas en el servicio de Terapia Intensiva de Neonatología, incrementan significativamente el número de EMN en la sangre periférica de RNP expuestos a fototerapia intensiva y oxigenación prolongada derivado de la terapéutica empleada necesaria para el restablecimiento de su salud.

8. MÉTODOS

Para la realización del presente se captaron muestras de sangre de RNP, previo consentimiento informado de los padres. La primera muestra de sangre se obtuvo en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales al utilizar oxigenoterapia o fototerapia en el RNP y posteriormente a las 24, 48, 72, y 96 horas de vida según se requiera en el tratamiento del paciente. La selección de los niños fue de RNP entre las 26 y 36 semanas de vida y expuestos a terapia de luz y terapia de oxígeno en diferentes modalidades.

La primera muestra se consideró el valor basal de EMN espontáneos con los que los RNP nacen. Las posteriores muestras fueron tomadas cada 24 horas aprovechando que estos pacientes son muestreados periódicamente para valorar gases arteriales y glucosa, siempre que esto sea posible, con la ventaja de evitar una punción al paciente y poder así recuperar una gota de sangre para la elaboración del frotis. Las muestras se agruparon con fototerapia y con terapia de oxígeno, para su posterior comparación. Se recabaron también información respecto al tiempo de exposición a fototerapia y oxigenoterapia a la que estuvo expuesto el RNP, esto dependiendo de la patología de base y en el caso de la fototerapia según los valores de bilirrubinas para su edad y peso, y en la oxigenoterapia dependiendo de los gases arteriales, datos de dificultad respiratoria que condicionen al prematuro a requerimientos de oxígeno en diferentes modalidades y a diferente fracción de oxígeno inspirada (FiO_2).

Las muestras fueron obtenidas del Departamento de Neonatología del Hospital Infantil de México "Federico Gómez". Los datos prenatales, neonatales y diagnóstico de los RNP fueron obtenidos del expediente, realizando una base de datos en la cual tomamos en cuenta la edad de nacimiento según la escala internacional de Ballard o Capurro, antecedentes heredo-familiares de importancia, antecedentes perinatales, estado del paciente al nacimiento, tratamiento durante su estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital

Infantil de México, Federico Gómez, laboratoriales tomados al inicio de su tratamiento y especificación de la terapia de oxígeno y de luz utilizada.

Para la aplicación de la terapia con luz se utilizó la lámpara Dräger Photo-Therapie 8000 Heraeus (Germany) con Id 55002870 y número de Serie (9409010), con requerimiento de 230 watts y 60 Hz, cuenta con 2 lámparas con luz azul de 1.7 A. La distancia de la luz con la piel del recién nacido es de aproximadamente 50-70 cm, con un tiempo de exposición variable, aproximadamente 6-8 horas y con toma de controles séricos de bilirrubinas para valorar el continuar con la fototerapia o la suspensión de la misma.

Para la terapia de oxígeno se realizó una valoración clínica y radiológica del RNP y se realizaron muestras de gases arteriales para valorar el dispositivo de oxígeno a utilizar, además según los patrones de ventilación y oxigenación se va modificando la fracción inspirada de oxígeno en caso que se requiera.

Se realizaron 2 frotis de sangre en portaobjetos limpios de cada RNP en cada toma, a manera de tener un duplicado por si se tuviera algún problema con el análisis de la muestra.

- a) **Preparación de muestras:** Las laminillas se dejaron secar a temperatura ambiente y se fijan en etanol absoluto por 10 min. La tinción se realizó con anaranjado de acridina [Zúñiga-González 2003], para su análisis.

- b) **Análisis de muestras.** El análisis de la muestra se realizó con un microscopio equipado con epifluorescencia, mediante el objetivo 100x. Los parámetros contados fueron, eritrocitos policromáticos (EPC) en 1,000 eritrocitos totales (ET), EMN en 10,000 ET y eritrocitos policromáticos micronucleados (EPCMN) en 1,000 EPC. Todas las laminillas fueron codificadas previamente y el lector desconoció la información de origen de las muestras (Figura 2).

El número de EMN permite determinar el daño acumulado, mientras los EPCMN reflejan el daño en las últimas 24 a 48 horas (ya que los policromáticos se tiñen diferencialmente con esta tinción y se vuelven normocromáticos al paso de 24 horas), y como control del sistema, para determinar si la terapia se vuelve citotóxica, se determina la proporción de EPC en todas las muestras. (Figura 3 y 4).

Se realizó el muestreo consecutivo al momento de ser manejado con la terapia de oxígeno y luz en el cual se reclutaron los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión.

9. POBLACION DE ESTUDIO

RNP que ingresaron a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales y que requirieron para el restablecimiento de su salud cuidados intensivos, con terapia de oxígeno en diferentes modalidades y con variedad en la fracción inspirada de oxígeno por minuto y terapia con luz para disminuir la cantidad de bilirrubina con el objetivo de evitar los efectos secundarios ya descritos en la literatura médica.

Se muestrearon pacientes RNP con edad gestacional comprendida entre 26 y 36 semanas de vida (Figura 5 y 6).

Grupo I (estudio): RNP que requieran para el restablecimiento de su salud oxigenoterapia prolongada.

- Ingreso a la Unidad de cuidados intensivos neonatales.
- Oxigenoterapia en cualquiera de su modalidades y una fracción inspirada de oxígeno >28% mayor a 48 horas.

Grupo II (estudio): RNP que requieran para el restablecimiento de su salud el uso de fototerapia intensiva.

- Ingreso a la Unidad de cuidados intensivos neonatales.
- Fototerapia intensiva (>48 horas con fototerapia simple o doble fototerapia).

Grupo III (estudio): RNP que requieran para el restablecimiento de su salud el uso de fototerapia intensiva y oxigenoterapia prolongada.

- Ingreso a la Unidad de cuidados intensivos neonatales.
- Fototerapia intensiva y oxigenoterapia prolongada en pacientes gravemente enfermos, necesarios para el restablecimiento de su salud.

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una base de datos con la información recabada y con los resultados obtenidos y se analizaron en el programa SSPS, de la siguiente manera:

- Estadística descriptiva con cálculo de frecuencias simples, porcentajes, medidas de tendencia central y dispersión (mediana y rango o amplitud), de los resultados obtenidos al analizar las muestras sanguíneas mediante el conteo de los parámetros considerados. Se hizo un vaciado de la información recabada a través del cuestionario y expediente clínico, así como el tratamiento utilizado tanto de la terapia de luz y de oxígeno por tiempo de exposición. Se valoraron las comorbilidades de cada paciente lográndose identificar grupos de riesgo como los hijos de madre diabética, los tratados con ácido fólico y eritropoyetina (EPO) los cuales pueden modificar la cantidad de EMN y EPC.
- Análisis estadístico con T de Student para muestras independientes: Prueba de Levene para igualdad de varianzas.

11. DESCRIPCION DE VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES:

- Fototerapia intensiva.
- Oxigenoterapia prolongada.

VARIABLES DEPENDIENTES

- Hallazgos del número de MN en cada observación.

Cuadro de definición de variables:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Micronúcleos	Fragmentos o cromosomas completos que espontáneamente o por causa de agentes clastógenos o aneuploidógenos, quedan fuera del núcleo en mitosis.	Los valores	Continua y de Razón	Nominal
Edad gestacional Índice Ponderal	Periodo de tiempo comprendido entre la concepción y las semanas 24 a 36. Hipotrófico o eutrófico.	Peso y Talla	Categórica	Ordinal
Genero	Masculino o Femenino	Sexo	Categórica	Nominal
Tipo Reanimación	Reanimación habitual o en caso de Apgar bajo reanimación cardiopulmonar avanzada.	Reanimación	Categórica	Nominal
Sepsis Neonatal	Se define como un Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica (SRIS) como resultado de infección durante el primer mes de vida extrauterina.	Sepsis	Categórica	Nominal
Nutrición Parenteral (NPT)	Suministro de carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas, minerales y oligoelementos que se aportan al paciente por vía intravenosa.	Días de NPT	Categórica	Ordinal
Modalidad de Ventilación	Oxígeno administrado al RNP para mantener una adecuada Ventilación y oxigenación. Controlada (VC), asistida-controlada (A/C), ventilación mandatoria intermitente (IMV), ventilación mandatoria intermitente sincrónica (SIMV) y presión positiva de soporte (PPS)	Oxigenación	Categórica	Ordinal
Morbilidad	Prevalencia e Incidencia de alguna enfermedad en un espacio y un tiempo.	Diagnóstico	Categórica	Ordinal
Tipo de Tratamiento	Tratamiento requerido para el RNP: Quirúrgico, Médico o Ambos.	Tratamiento	Categórica	Ordinal
Albúmina	Proteína principal que se encuentra en gran proporción en el plasma	Niveles de albúmina	Categórica	Nominal

	sanguíneo, valora desnutrición.			
Sobrevida	Lapso de tiempo que transcurre desde el tratamiento de una enfermedad hasta la muerte.	Vida o muerte	Categórica	Nominal
Fracción Inspirada de Oxígeno (FiO ₂)	Es la concentración o proporción de oxígeno en la mezcla del aire inspirado.	Cantidad de FiO ₂	Categórica	Ordinal
Oxigenación	Administración de apoyo ventilatorio en cualquier modalidad con una FiO ₂ igual o mayor al 28%.	Oxigenoterapia	Continua	Nominal
Hiperbilirrubinemia	Trastorno que se caracteriza en la elevación de los niveles de bilirrubinas >270 mosm/L determinadas en sangre.	Niveles de Bilirrubina	Categórica	Ordinal
Fototerapia	Aplicación de luz blanca o azul para manejo de hiperbilirrubinemia.	Fototerapia	Categórica	Nominal
Horas de Fototerapia	Cantidad de tiempo en horas a las que fue expuesto el RNP para manejo de la hiperbilirrubinemia.	Tiempo	Continua	Ordinal
Tipo Hiperbilirrubinemia	Incremento de bilirrubinas en sangre por factor: Multifactorial o Hemolítico	Factor secundario	Categórica	Nominal
Niveles de incrementos o decremento de bilirrubinas	Cantidad que disminuye o incrementan las bilirrubinas en un tiempo determinado ya con manejo de fototerapia.	Niveles de Bilirrubina	Categórica	Nominal
Riesgo sumatorio	Clasificación del paciente según tratamiento y diagnóstico.	Diagnósticos	Categórica	Ordinal
Choque séptico	Sepsis con hipotensión. Trastornos en la perfusión.	Requerimiento de volumen o aminos	Categórica	Nominal
Aminas	Compuestos químicos orgánicos que se consideran como derivados del amoníaco y resultan de la sustitución de los hidrógenos de la molécula por los radicales alquilo.	Tratamiento	Categórica	Nominal
Antibióticos	Sustancia química producida por un ser vivo o derivada sintética que impide el crecimiento de ciertas clases de microorganismos sensibles.	Tratamiento	Categórica	Nominal
Hemoglobina	Proteína de la sangre que transporta el oxígeno desde los órganos respiratorios hasta los tejidos.	Cantidad	Categórica	Nominal
Hematocrito	Porcentaje del volumen total de la sangre compuesta por glóbulos rojos.	Porcentaje	Categórica	Nominal
Grupo Sanguíneo	Clasificación de la sangre de acuerdo con las características presentes o no en la superficie de los glóbulos rojos y en el suero de la sangre.	Tipo	Categórica	Escala

12. RESULTADOS

Se obtuvieron 39 muestras de 17 RNP, de entre 26 a 34 semanas de gestación: de 26 semanas 1, de 27 semanas 2, de 28 semanas 4, de 29 semanas 1, de 30 semanas 3, de 32 semanas 1, de 33 semanas 3 y de 34 semanas de gestación 2. (Tabla 1).

Población de estudio (17 RNP)

Género	SDG	EMN	EPC	EPCMN
Femenino	26 semanas	3	14	3
Masculino	27 semanas	0	7	0
Femenino	27 semanas	3	3	0
Masculino	28 semanas	0	4	1
Femenino	28 semanas	3	35	1
Masculino	28 semanas	8	23	2
Femenino	28 semanas	13	5	3
Masculino	29 semanas	3	5	1
Masculino	30 semanas	11	13	3
Masculino	30 semanas	7	38	1
Femenino	30 semanas	19	26	1
Femenino	32 semanas	7	25	2
Masculino	33 semanas	6	40	3
Femenino	33 semanas	8	11	4
Femenino	33 semanas	4	3	0
Femenino	34 semanas	3	7	1
Masculino	34 semanas	8	22	0

Promedio	6.23	16.52	1.52
DE	± 4.85	± 12.76	± 1.28

Tabla 1. Población de estudio, muestras basales de EMN, EPC, EPCMN.

Los promedios de las muestras basales de los 17 pacientes fueron los siguientes:

	EMN	EPC	EPCMN
Promedio	6.23	16.52	1.52
DE	± 4.85	± 12.76	± 1.28

Tabla 2. Promedios de EMN, EPC, EPCMN de RNP

Lo cual muestra una vez más, que los RNP (que son niños inmaduros), presentan MN en sus eritrocitos.

No encontramos daño por exposición a terapia de luz con este tipo de lámparas y tampoco daño por exposición a oxígeno. La cantidad de MN no fue significativa, sin embargo no es factor para descartar el daño ya antes descrito en otros estudios, por lo cual es importante continuar la investigación futura y seguir estudiando la genotoxicidad de ambos tratamientos.

En la base de datos realizada se encontraron comorbilidades importantes en los RNP, dentro de las cuales destacan ser hijos de madre diabética lo cual incrementa los radicales libres, haber sido tratados con ácido fólico el cual ha demostrado ser un protector para el feto y la Eritropoyetina (EPO) la cual se ha visto involucrada en la eritropoyesis; la importancia de esto es que se logró observar en estos pacientes incremento de EMN y EPC.

Considero que la información que existe respecto a EMN en RNP es muy poca y definitivamente se concreta a los trabajos que hemos realizado incluyendo el presente, por lo que es mi intención dar a conocer esta información y al mismo tiempo poner en perspectiva la utilidad que puede llegar a tener en un futuro próximo.

A continuación se describen en tablas los grupos de RNP hijos de madre diabéticas, tratados con ácido fólico y con EPO haciendo una comparación con los que no tuvieron este mismo manejo con la finalidad de ver la proporción y los promedios de los EMN y EPC.

RNP con Madres Diabéticas

Género	SDG	EMN Basal
Masculino	30 semanas	7
Femenino	30 semanas	19

Promedio	13
DE	± 8.48

RNP con Madres No diabéticas

Género	SDG	EMN Basal
Masculino	26 semanas	3
Masculino	27 semanas	3
Femenino	27 semanas	0
Femenino	28 semanas	3
Masculino	28 semanas	0
Femenino	28 semanas	8
Masculino	28 semanas	13
Masculino	29 semanas	3
Femenino	30 semanas	11
Femenino	32 semanas	7
Masculino	33 semanas	6
Femenino	33 semanas	8
Femenino	33 semanas	4
Masculino	34 semanas	3
Femenino	34 semanas	8

Promedio	5.33
DE	± 3.79

Tabla 3. Promedios de EMN en RNP con madres diabéticas y sin diabetes.

RNP Tratados con Eritropoyetina

Género	SDG	EMN Basal	EPC Basal
Masculino	28 semanas	8	23
Masculino	30 semanas	7	38
Femenino	30 semanas	19	26

Promedio	11.33	29
----------	-------	----

RNP sin Eritropoyetina

Género	SDG	EMN Basal	EPC Basal
Femenino	26 semanas	3	14
Masculino	27 semanas	0	7
Femenino	27 semanas	3	3
Masculino	28 semanas	0	4
Femenino	28 semanas	3	35

DE	± 6.65	± 7.93		
Femenino	28 semanas	13	5	
Masculino	29 semanas	3	5	
Masculino	30 semanas	11	13	
Femenino	32 semanas	7	25	
Masculino	33 semanas	6	40	
Femenino	33 semanas	8	11	
Femenino	33 semanas	4	3	
Femenino	34 semanas	3	7	
Masculino	34 semanas	8	22	
Promedio				
		5.14	13.85	
DE				
		± 3.86	± 12.13	

Tabla 4. Promedios de EMN y EPC en RNP tratados con/sin EPO

RNP tratados con Ácido fólico

Género	SDG	EMN Basal	EPC Basal
Femenino	28 semanas	3	35
Masculino	28 semanas	0	4
Femenino	33 semanas	4	3
Femenino	34 semanas	3	7
Promedio			
		2.5	12.25
DE			
		± 1.73	± 15.26

Tabla 5. Promedios de EMN y EPC en RNP tratados con ácido fólico

RNP sin Ácido fólico

Género	SDG	EMN	EPC	EPCMN
Femenino	26 semanas	3	14	3
Masculino	27 semanas	0	7	0
Femenino	27 semanas	3	3	0
Femenino	28 semanas	13	5	3
Masculino	29 semanas	3	5	1
Masculino	30 semanas	11	13	3
Femenino	32 semanas	7	25	2
Masculino	33 semanas	6	40	3
Femenino	33 semanas	8	11	4
Masculino	34 semanas	8	22	0

Promedio	6.2	14.5	1.9
DE	± 4.02	± 11.54	± 1.52

Tabla 6. Promedios de EMN y EPC en RNP sin ácido fólico

RNP tratados con Ácido fólico/Eritropoyetina

Genero	SDG	EMN Basal	EPC Basal
Femenino	28 semanas	3	35
Masculino	28 semanas	8	23
Masculino	28 semanas	0	4
Masculino	30 semanas	7	38
Femenino	30 semanas	19	26
Femenino	33 semanas	4	3
Femenino	34 semanas	3	7

Promedio	6.28	19.42
DE	± 6.21	± 14.75

Tabla 7. Promedios de EMN y EPC en RNP tratados con ácido fólico y EPO

Análisis estadístico con T de Student para muestras independientes: Prueba de Levene para igualdad de varianzas.

Descripción	N	Media	Valor	P	
RNP Madre diabética	2	5.33	EMN	0.060	NS
RNP Madre no diabética	15	13	EMN		
RNP tratado con ácido fólico	7	1.42	EMN	0.084	NS
RNP sin ácido fólico	10	6.2	EMN		
RNP tratado con EPO	3	13.85	EPC	0.416	NS
RNP sin EPO	14	29	EPC		

Tabla 8. Análisis estadístico por grupos. NS (No significativo).

Al realizar el análisis estadístico no se encontró significativo, el número de pacientes que cumplieron con todos los criterios de inclusión fue de 17, siendo una muestra pequeña, aunque los promedios de EMN y EPC son los esperados para cada uno de los grupos, lo cual es una pauta para continuar el estudio hasta alcanzar una muestra mayor.

Como resultado del presente podemos también observar que obtener la frecuencia de EMN puede ser de gran utilidad, ya que se relaciona con varios de los parámetros que son considerados en el trayecto de la hospitalización de un RNP. Además, aporta nueva información que puede ayudar para entender mejor los efectos buenos o malos que se tienen sobre el ADN de estos infantes, por el multimanejo al que son expuestos.

13. DISCUSION

Oxigenoterapia y Fototerapia:

En este estudio no se observaron cambios significativos en los niveles de EMN o EPCMN cuando los pacientes fueron expuestos a la terapia de oxígeno en sus diferentes variantes ni cuando se expusieron a fototerapia, tomando en cuenta que solo se utilizó un tipo de lámpara y con luz azul. En un trabajo previo, tampoco se pudo demostrar incremento de EMN o EPCMN en los pacientes expuestos a oxigenoterapia, la cual tiene interés desde el punto de que es conocido sus efectos adversos bajo ciertas condiciones y concentraciones, por ejemplo se conoce que las cámaras hiperbáricas pueden incrementar los niveles de EMN, y que en terapias de resucitación de RNP, concentraciones altas de oxígeno pueden ocasionar daños a los niños, ya mencionados previamente.

Por otro lado, en el estudio previo, si fue observado el efecto genotóxico de la fototerapia, el cual incrementó los valores de EMN y EPCMN al paso del tiempo, esto es a mayor tiempo de exposición del paciente, mayor número de ambos parámetros [Zúñiga-González *et al.*, 2012]. Este punto resulta muy importante de comentar ya que en dicho trabajo los pacientes fueron expuestos a fototerapia, pero utilizando lámparas dicróicas que fueron colocadas a 70 cm del RNP, con intensidad de 525 luxes (longitud de onda de entre 400- 760nm) y lámparas fluorescentes (4 tubos) colocados también a 70 cm, con intensidad de 1850 luxes (longitud de onda de entre 400-550 nm) (Zúñiga-González *et al.*, 2012). En el presente trabajo, el tipo de lámpara utilizado fue diferente y la fototerapia consistió en lámparas de luz azul Dräger Photo-Therapie 8000 Heraeus (Germany) con Id 55002870 y número de Serie (9409010), con requerimiento de 230 watts y 60 Hz, cuenta con 2 lámparas con luz azul de 1.7 A. La distancia de la luz con la piel del recién nacido fue de aproximadamente 50-70 cm. La diferencia importante parece ser el tipo de luz empleada. Y el hallazgo es muy importante ya que cuando concluimos el trabajo previo ya comentado, surgieron preguntas respecto a si todas las lámparas podían producir daño a los RNP, si solo algunas o si encontraríamos diferencias de lámpara a lámpara. Con los resultados del

presente, si bien el tamaño de la muestra no permite concluir de forma contundente, si nos abre un panorama alentador respecto a las preguntas originales que nos hicimos y queda obligado el continuar un estudio comparativo en igualdad de condiciones para dilucidar si este hallazgo podría hacernos identificar lámparas que no producen daño a los RNP, como parece ser el caso, ya que en ninguno de los pacientes se ve incremento de EMN o EPCMN en las muestras seriadas con la exposición a fototerapia con este tipo de lámparas en específico. Aun y cuando el tamaño de muestra resulta pequeño debido a que se tuvieron que excluir pacientes por muerte temprana y transfusión de hemoderivados durante el muestreo, por comparación con estudios previos, los valores obtenidos reflejan la información esperada, lo que nuevamente nos da confianza en nuestros datos y resultados, por ejemplo:

Diabetes:

Sabemos que las mujeres diabéticas producen mayor cantidad de radicales libres que las mujeres no diabéticas, y que los radicales libres pasan la barrera placentaria y que pueden producir rompimientos cromosómicos que a su vez se pueden convertir en MN, razón por la cual las mujeres diabéticas tienen mayor probabilidad de procrear a un hijo con algún tipo de anormalidad [Batista-González *et al.*, 2006] En el presente trabajo valorando las diversas comorbilidades de los pacientes, cuando separamos las dos muestras de los RNP hijos de madre diabética encontramos que promediaron 13 EMN (EMN Basal 7 y 19), mientras las de los 15 RNP restantes promediaron 5.33 EMN, con lo que se ve el efecto descrito previamente (daño acumulado) y con lo que podríamos interpretar como que la madre diabética resulta potencialmente teratógena para su feto (Tabla 3).

Eritropoyetina:

Se ha descrito que para hacer más sensible la técnica de MN podría ser utilizando aceleradores de la mitosis, particularmente se ha descrito el uso de eritropoyetina (EPO) la cual induce la multiplicación de los eritroblastos favoreciendo la eritropoyesis en médula ósea, demostrado en un estudio en ratones a los cuales

se les administro 1,1-dimetilhidracina (DMH) con previa administración de EPO y en el cual se observó mayor incremento de MN [Suzuki-Yuji *et al.*, 1989]; así también se ha utilizado el cobalto para aumentar la división celular y así ver amplificado el efecto de los MN. En el presente trabajo, al separar las 3 muestras de los RNP que fueron tratados con eritropoyetina (EMN Basal 8, 7, 19) promediaron 11.33 EMN, mientras las 14 muestras restantes promediaron 5.14 EMN, de igual manera la proporción de EPC se ve incrementada con la EPO como era de esperarse, ya que estos como se había comentado previamente son los eritrocitos jóvenes recién salidos de la médula ósea (EPC basal 23, 38, 26) con un promedio de 29, contra un promedio de 13.8 EPC en los que no recibieron tratamiento con EPO (Tabla 4 y 5).

Ácido fólico:

Cuando consideramos la ingesta de la madre de ácido fólico en su control prenatal, también los resultados fueron los esperados. Sabemos por trabajos previos que el ácido fólico, por ser un antioxidante importante y además por estar involucrado en la biosíntesis del ADN, puede tener efecto protector sobre el feto disminuyendo los valores de EMN [Zúñiga-González *et al.*, 2007]. En el presente trabajo, eliminando los pacientes hijos de madre diabética, los tratados con EPO o los que hayan sido transfundidos, obtuvimos 4 casos de hijos de madres que tomaron ácido fólico durante la gestación, los cuales dan un promedio de 2.5 EMN contra 6.2 EMN de las 10 muestras basales de los hijos de madres que no tomaron ácido fólico, con lo cual podemos deducir que efectivamente existe disminución en los EMN secundario al efecto protector del ácido fólico (Tabla 6 y 7).

Bilirrubinas:

Se consideró el valor de las bilirrubinas ya que algunos autores proponen que estas pudieran tener efectos antioxidantes o influir en valores de EMN [Aycicek *et al.*, 2007, Aycicek *et al.*, 2008]; sin embargo, en el presente no se observó ninguna relación de aumento o disminución de los EMN o EPCMN por la concentración de

bilirrubinas. Las bilirrubinas de los RNP se obtuvieron en miligramos por decilitro (mg/dl) realizando la conversión a micromoles por litro (mmol/l), así como también se valoró el índice de incremento o decremento con controles de bilirrubinas por horas de exposición a la fototerapia, pero en ninguno se logró evidenciar incremento de EMN por exposición a este tipo de luz.

14. CONCLUSIÓN:

Los EMN son relacionados con la inmadurez y posiblemente si llegamos a entender los factores que influyen en su variación, se pueda llegar a considerar como una herramienta muy útil para identificar a los RNP más inmaduros y con mayores comorbilidades; independientemente de su edad gestacional y con el objetivo de poder ofrecer un tratamiento eficaz e incluso valorar la posible terapia con antioxidantes para disminuir el daño al ADN y retrasar la aparición de los radicales libres que hasta el momento sabemos que se encuentran implicados en diversas patologías.

Con el muestreo realizado, los resultados sugieren que las lámparas de luz azul utilizadas en el Departamento de Neonatología del Hospital Infantil de México, no incrementan los EMN o EPCMN, como se ha observado con otras lámparas. De igual manera no se demuestra daño inducido por terapias de oxígeno.

Ser hijo de madre diabética incrementa el riesgo de rompimientos cromosómicos por lo cual incremento en la cantidad de EMN, el ácido fólico es un antioxidante importante involucrado en la biosíntesis del ADN, puede tener efecto protector sobre el feto disminuyendo los valores de EMN. La EPO es un acelerador de la mitosis e inductor de la eritropoyesis demostrado por el incremento de EPC.

El objetivo principal es continuar el estudio de los micronúcleos y en particular con los RNP, ya que estos pacientes se encuentran expuestos a multimanejos; por lo que es de suma importancia comprender mejor los efectos que se tienen sobre el ADN de estos infantes.

15. CRONOGRAMA

ACTIVIDADES (ENE 2012 – MAYO 2013)	ENE-	MAR-	MAY-	JUL-	SEP-	NOV-	ENE-	MAR-	MAYO
	FEB	ABR	JUN	AGO	OCT	DIC	FEB	ABR	
Actualización bibliográfica	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Captación y selección de pacientes participantes	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Obtención de muestras de sangre para elaboración de frotis sanguíneos			✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Captación de datos de expedientes y llenado de cuestionario		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Procesamiento y análisis de muestras		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Elaboración de bases de datos			✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Procesamiento y análisis de resultados			✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Elaboración de manuscrito para presentación de resultados							✓	✓	✓
Elaboración de informe final y conclusión de actividades									✓

16. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Criterios de no inclusión:

- Neonatos portadores de malformaciones congénitas mayores.
- Neonatos portadores de errores congénitos del metabolismo.
- Neonatos portadores de discrasias sanguíneas congénitas o adquiridas.
- Neonatos portadores de mecanismos de hemólisis secundarios a Rh y ABO.
- Antecedentes maternos de adicciones activas durante la gestación (tabaco, drogas o alcohol).

Criterios de exclusión:

- Abandono voluntario.
- Que no se tengan las muestras de sangre en tiempos solicitados.
- Muerte neonatal temprana (<7 días).
- Transfusión de hemoderivados en los primeros 7 días.

17. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aycicek A, Erel O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. *J Pediatr (Rio J)* 2007; 83(4): 319–322.
- Aycicek A, Kocyigit A, Erel O, Senturk H. Phototherapy causes DNA damage in peripheral mononuclear leukocytes in term infants. *J. Pediatr (Rio J)* 2008; 84(2): 141–146.
- Baltimore SR. Neonatal nosocomial infections. *Semin Perinatol* 1998; 22: 25–32.
- Batista-González CM, Corona-Rivera JR, Gómez-Meda BC, Zamora-Perez AL, Ramos-Ibarra ML, Zúñiga-González GM. Micronucleated erythrocytes in preterm newborns in relation to maternal pathology. *Rev Biomed* 2006; 17(1): 11–16.
- Buhimschi IA, Buhimschi CS, Pupkin M, Weiner CP. Beneficial impact of term labor: Non-enzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 189(1): 181–188.
- Corazza G, Ginaldi L, Zoli G, Frisoni M, Lalli G, Gasbarrini G, Quagliano D. Howell-Jolly body counting as a measure of splenic function, a reassessment. *Clin Lab Haematol* 1990; 12(3): 269–275.
- Cunningham S, McColm JR, Wade J, Sedowofia K, McIntosh N, Fleck B. A novel model of retinopathy of prematurity simulating preterm oxygen variability in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(13): 4275–4280.
- Duydu Y, Ustündag A, Aydin A, Eken A, DüNDAR K, Uzun G. Increased sensitivity to mitomycin C-induced sister chromatid exchange in lymphocytes from patients undergoing hyperbaric oxygen therapy. *Environ Mol Mutagen* 2006; 47(3): 185–191.
- Eken A, Aydin A, Sayal A, Ustündag A, Duydu Y, DüNDAR K. The effects of hyperbaric oxygen treatment on oxidative stress and SCE frequencies in humans. *Clin Biochem* 2005; 38(12): 1133–1137.
- Hernández Arriaga JL. Ética en la Investigación Biomédica. México, D.F.: Manual Moderno. 1999: 43.
- Kahveci H, Dogan H, Karaman A, Caner I, Tastekin A, Ikbal M. Phototherapy causes a transient DNA damage in jaundiced newborns. *Drug and Chemical Toxicology*, 2013; 36(1): 88-92
- Korkmaz A, Otero S, Sadir S, Topal T, Uysal B, Ozler M, Ay H, Akin A. Exposure time related oxidative action of hyperbaric oxygen in rat brain. *Neurochem Res* 2008; 33(1): 160–166.

- Ledo A, Arduini A, Asensi MA, Sastre J, Escrig R, Brugada M, Aguar M, Saenz P, Vento M. Human milk enhances antioxidant defenses against hydroxyl radical aggression in preterm infants. *Am J Clin Nutr* 2009; 89(1): 210–215.
- Mancilla RJ. Choque séptico en neonatos. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1992; 49(1): 776.
- Oter S, Korkmaz A, Topal T, Ozcan O, Sadir S, Ozler M, Ogur R, Bilgic H. Correlation between hyperbaric oxygen exposure pressures and oxidative parameters in rat lung, brain and erythrocytes. *Clin Biochem* 2005; 38(8): 706–711.
- Oter S, Topal T, Sadir S, Ozler M, Uysal B, Ay H, Yaren H, Korkmaz A, Akin A. Oxidative stress levels in rats following exposure to oxygen at 3 atm for 0-120 min. *Aviat Space Environ Med* 2007; 78(12): 1108–1113.
- Rothfuss A, Stahl W, Radermacher P, Speit G. Evaluation of mutagenic effects of hyperbaric oxygen (HBO) *in vitro*. *Environ Mol Mutagen* 1999; 34(4): 291–296.
- Saugstad OD, Ramji S, Vento M. Oxygen for Newborn Resuscitation: How Much Is Enough? *Pediatrics* 2006; 118(2): 789–792.
- Speit G, Dennog C, Radermacher P, Rothfuss A. Genotoxicity of hyperbaric oxygen. *Mutat Res* 2002; 512(2-3): 111–119.
- Suzuki-Yuji, Nagae-Yusuke, Ishikawa-Tomoharu, Watanabe-Yuzo, Nagashima-Toshiharu, Matsukubo-Kogen, Shimizu-Hidesuke. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 1989;13: 314–318
- Vento M, Asensi M, Sastre J, Lloret A, García-Sala F, Viña J. Oxidative stress in asphyxiated term infants resuscitated with 100% oxygen. *J Pediatr* 2003; 142(3): 240–246.
- Weinberger B, Laskin DL, Heck DE, Laskin JD. Oxygen toxicity in premature infants. *Toxicol Appl Pharmacol* 2002; 181(1): 60–67.
- Zúñiga-González G, Torres-Bugarín O, Zamora-Perez A, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Martínez-González S, González-Rodríguez A, Luna-Aguirre J, Ramos-Mora A, Ontiveros-Lira D, Gallegos-Arreola MP. Differences in the number of micronucleated erythrocytes among young and adult animals including humans. Spontaneous micronuclei in 43 species. *Mutat Res* 2001; 494: 161–167.
- Zúñiga-González G, Torres-Bugarín O, Ramos-Ibarra ML, Zamora-Perez A, Gómez-Meda BC, Ventura-Aguilar AJ, Ramos-Mora A, Ortiz GG, Álvarez-Moya C, González-Rodríguez A, Luna-Aguirre J, Gallegos-Arreola MP. Variation of micronucleated erythrocytes in peripheral blood of *Sciurus aureogaster* in relation to age: An increment

of micronucleated polychromatic erythrocytes after the administration of colchicine. *Environ Mol Mutagen* 2001b; 37: 173–177.

- Zúñiga-González G, Gómez-Meda BC, Zamora-Perez A, Ramos-Ibarra ML, Batista-González CM, Espinoza-Jiménez S, Gallegos-Arreola MP, Álvarez-Moya C, Torres-Bugarin O. Induction of micronuclei in proestrus vaginal cells from colchicine- and cyclophosphamide-treated rats. *Environ Mol Mutagen* 2003; 42: 306–310.
- Zúñiga-González GM, Batista-González CM, Gómez-Meda BC, Ramos-Ibarra ML, Zamora-Perez AL, Muñoz-Magallanes T, Ramos-Valdés C, Gallegos-Arreola MP. Micronuclei in diabetes: Folate supplementation diminishes micronuclei in diabetic patients but not in an animal model. *Mutation Research* 2007;634: 126-134
- Zúñiga-González G, Gómez-Meda BC, Lemus-Varela ML, Zamora-Pérez AL, Arméandariz-Borunda J, Barros-Hernández A, Sánchez-Díaz A, Gallegos-Arreola MP. Micronucleated erythrocytes in preterm newborns exposed to phototherapy and/or oxygen therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 2012;107 : 79-83

17. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Criterios de no inclusión:

- Neonatos portadores de malformaciones congénitas mayores.
- Neonatos portadores de errores congénitos del metabolismo.
- Neonatos portadores de discrasias sanguíneas congénitas o adquiridas.
- Neonatos portadores de mecanismos de hemólisis secundarios a Rh y ABO.
- Antecedentes maternos de adicciones activas durante la gestación (tabaco, drogas o alcohol).

Criterios de exclusión:

- Abandono voluntario.
- Que no se tengan las muestras de sangre en tiempos solicitados.
- Muerte neonatal temprana (<7 días).
- Transfusión de hemoderivados en los primeros 7 días.

18. ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio se apega a los principios éticos expuestos en la Declaración de Helsinki para la Investigación Médica en donde participen sujetos humanos.

- **Condiciones en las cuales se solicita el consentimiento:** A los padres de los RNP participantes les será informado el objetivo del estudio con la intención de tener primero un consentimiento informado, y se recabará la firma del consentimiento de alguno de los padres o tutores que deseen que sus hijos participen en la fase de la toma de muestra para frotis sanguíneo de los RNP (Anexo 1).

Riesgo de la investigación: El riesgo para el paciente es mínimo ya que solo se obtendrán dos gotas de sangre cada 24 horas (una vez al día) durante el tiempo que dure su tratamiento con fototerapia y oxigenoterapia, con la que se realizarán dos extendidos en un portaobjetos; la muestra se obtendrá cuando sea posible al momento de que el RNP sea muestreado para alguno de sus estudios o con mucho cuidado por punción del talón, con una lanceta y tratando de ocasionar el menor daño.

Contribuciones y beneficios del estudio para los participantes y la sociedad en conjunto: Debido a que en el presente estudio se pretende identificar si las lámparas utilizadas para fototerapia o si los diferentes instrumentos utilizados para la terapia de oxígeno (casco cefálico, puntas nasales, mascarilla facial y ventilación mecánica asistida) producen daño al material genético del RNP, el paciente participante en esta ocasión no tendrá beneficios inmediatos; sin embargo, si el resultado del estudio es positivo, se podrá plantear alternativas para

proteger a los futuros RNP y así prevenir daño a su material genético con las conocidas posibles consecuencias. Socialmente, si el resultado del estudio es el esperado, se dará a conocer buscando que se implemente un estudio para la protección del RNP en cualquier institución de salud. De igual manera, este estudio podrá ser el inicio de una serie de estudios en los que se evaluará otros tipos de lámparas utilizadas en fototerapia y diversos métodos para la terapia de oxígeno en otros hospitales.

Confidencialidad: Los responsables del proyecto se comprometen a que la información obtenida del cuestionario, expediente y demás se mantendrá estrictamente confidencial así como su identidad para evitar un mal uso de la información proporcionada.

19. ANEXOS



**Hospital Infantil de México “Federico Gómez”
Centro de Investigación Biomédica de Occidente**



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Lo(a) estamos invitando a participar en un estudio de investigación que se llevará a cabo en el Hospital Infantil de México, con la colaboración del Servicio de Neonatología, así como del Laboratorio de Mutagénesis del Centro de Investigación Biomédica de Occidente (CIBO), IMSS.

En la práctica clínica, la fototerapia es utilizada para disminuir la concentración de bilirrubina en la sangre, mientras que la oxígeno terapia es utilizada en los infantes pretérmino como un apoyo ventilatorio. Se ha descrito recientemente que estas terapias necesarias para la vitalidad de los recién nacidos, podrían tener la capacidad de producir estrés oxidativo y por consiguiente generar radicales libres, que pueden causar daño a diversas moléculas, entre ellas, al ADN, de tal manera que podría generarse fragmentación o pérdida cromosómica, misma que puede ser analizada mediante la prueba de micronúcleos.

En el presente estudio se determinará la cantidad de eritrocitos con micronúcleos, mediante la obtención de una muestra basal, que consta de obtener una gota de sangre tomada por punción del talón con una lanceta, la cual se comparará con muestras tomadas cada 24 horas, mientras dure la terapia de oxígeno y fototerapia, hasta las 96 a 144 horas de exposición. El poder contar con este dato resultaría de gran importancia para determinar si la fototerapia y/o oxigenoterapia utilizadas tienen la capacidad de producir daño al ADN y así decidir cómo neutralizar dicho daño y de esta manera proteger a los pacientes.

Para este estudio, se realizará una punción en uno de sus talones previa asepsia, o se tomará una gota de sangre de las tomas de los controles sanguíneos que se hagan de rutina durante el día, esto ocasionará una mínima molestia. Con esta gota de sangre se realizará un frotis sanguíneo por duplicado, para posteriormente con el microscopio realizar un conteo celular. La muestra se tomará durante el tiempo que el paciente esté recibiendo el tratamiento de oxigenoterapia o fototerapia (durante su estancia hospitalaria), cada 24 horas, para poder llevar un control sanguíneo por tiempo de exposición.

Este trabajo se trata de un estudio clínico mínimamente invasivo, sin ninguna complicación ni efecto secundario.

Usted no recibirá un pago por su participación, ni implica algún gasto para usted. Los beneficios directos para usted pudieran no existir, más sin embargo, los resultados del presente estudio contribuirán al avance en el conocimiento de la cadena causal en pacientes bajo terapias con oxígeno y fototerapia, y los resultados brindarán información para el manejo de niños como el de usted, así como para futuros programas de prevención primaria y secundaria en el área de neonatología.

Al igual que su hijo, otros niños pretérmino que vayan a recibir oxígeno terapia y fototerapia, por lo menos tres días, serán invitados a participar en el proyecto.

Durante el transcurso de este estudio, le informaremos cualquier hallazgo pertinente para su bienestar y salud.

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. Si en un principio desea participar y posteriormente cambia de opinión, usted puede abandonar el estudio en cualquier momento, sin modificar de ninguna manera los beneficios que usted tiene como nuestro paciente.

Por favor lea la información que le proporcionamos, y haga las preguntas que desee antes de decidir participar o no.

- Por medio de la presente yo _____ manifiesto que soy mayor de edad y autorizo a la Dra. Angélica Barros Hernández para que realice los siguientes procedimientos:
 - **Extraer una gota de sangre con una lanceta del talón de mi hijo durante la terapia de oxígeno y/o fototerapia.**
 - **Repetir el procedimiento anterior cada 24 horas, mientras permanezca activa la terapia.**

El proyecto de investigación en el que acepto participar se denomina:

GENOTOXICIDAD DE LA OXÍGENOTERAPIA Y FOTOTERAPIA MEDIANTE LA PRUEBA DE MICRONUCLEOS EN SANGRE PERIFÉRICA DE RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO

Mi firma en este documento manifiesta mi participación voluntaria en este proyecto de investigación. Tal participación no libera a los investigadores, la institución y agencias participantes de su responsabilidad ética para conmigo.

He sido informado(a) de que sólo en caso de que el resultado del presente proyecto de investigación sea informativo, podré recibir el resultado, por lo que manifiesto mi voluntad de:

Si () No () conocer los resultados del estudio derivado de mi muestra.

La información anterior me fue explicada por la Dra. Angélica Barros Hernández, residente de Pediatría del Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

Entiendo que mi participación en esta investigación puede terminar en cualquier momento sin que perjudique mi futura atención.

Asimismo, los responsables del proyecto se comprometen a que la información obtenida del cuestionario, expediente y demás, será estrictamente confidencial, así como la identidad del participante, para evitar un mal uso de la información proporcionada.

Lugar _____

Fecha _____

Firma del encargado de obtener el consentimiento informado.

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre y firma del encargado de obtener CI

Firma del participante

Nombre y Firma del Testigo (Parentesco)

Nombre y Firma del Testigo (Parentesco)

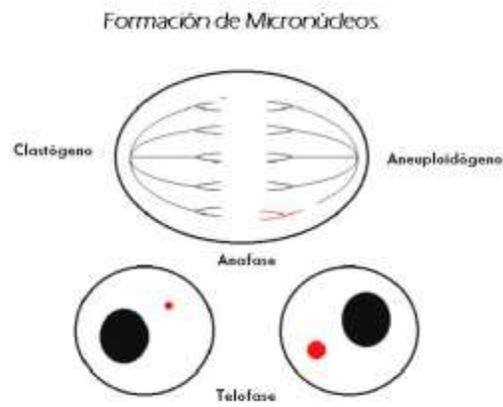


Figura 1. Formación de micronúcleos



Figura 2. Realización de frotis sanguíneos, fijación y tinción de muestras, lectura de laminillas con equipo de Epifluorescencia.

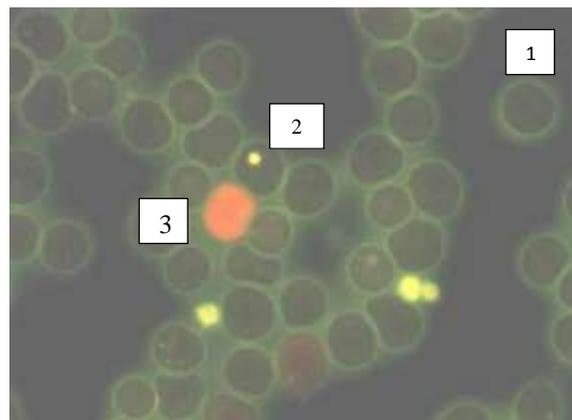


Figura 3. 1) Eritrocito normocromático (ENC), 2) Eritrocito micronucleado (EMN), 3) Eritrocito policromático (EPC).

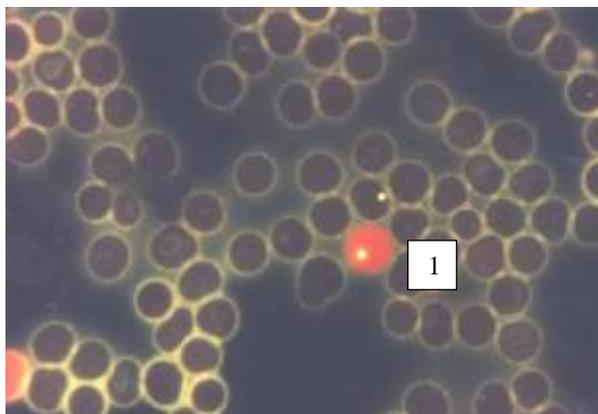


Figura 4. Eritrocitos de Sangre periférica.
1) Eritrocito Policromático Micronucleado (EPCMN)



Figura 5. RNP con Fototerapia y Oxigenoterapia.



Figura 6. Doble Fototerapia.