



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudios de Posgrado

Instituto Nacional de Perinatología
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES

**EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL DE VITAMINA E
SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA RETINOPATÍA DEL
PREMATURO EN RECIÉN NACIDOS PRETERMINO
MENORES DE 1500 GRAMOS
ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL
TÍTULO DE:**

ESPECIALISTA EN

NEONATOLOGÍA

P R E S E N T A:

**MARIO DAVID SANCHEZ
MENDEZ**

**DRA. IRMA ALEJANDRA CORONADO
ZARCO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
NEONATOLOGÍA**

**DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO
DIRECTOR DE TESIS**



CIUDAD DE MÉXICO

2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

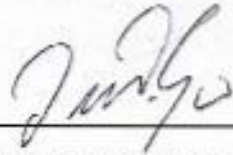
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

AUTORIZACION DE TESIS

*EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL DE VITAMINA E SOBRE EL ESTRÉS
OXIDATIVO Y LA RETINOPATÍA DEL PREMATURO EN RECIÉN NACIDOS
PRETERMINO MENORES DE 1500 GRAMOS

ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO*



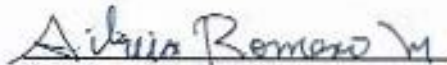
DRA. VIRIDIANA GORBEA CHAVEZ

DIRECTOR DE EDUCACION EN CIENCIAS DE LA SALUD



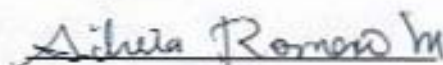
DRA. IRMA ALEJANDRA CORONADO ZARCO

PROFESOR TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO DE
ESPECIALIZACIÓN EN NEONATOLOGÍA



DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO

DIRECTOR DE TESIS



DRA. SILVIA ROMERO MALDONADO

ASESOR METODOLÓGICO

Título: Efecto de la suplementación oral de vitamina E sobre el estrés oxidativo y la retinopatía del prematuro en recién nacidos pretermino menores de 1500 gramos. Ensayo clínico aleatorizado.

Autores:

Silvia Romero-Maldonado, Araceli Montoya-Estrada, Yessica Dorin Torres-Ramos, Alberto Martín Guzmán-Gronfoll, Mario David Sánchez-Méndez, Javier Mancilla-Ramírez, Maricruz Tolentino-Dolores, Manuel Salgado-Valladares, Juan José Hicks

Autor correspondiente:

Dr. Mario David Sánchez Méndez

Instituto Nacional de Perinatología

Montes Urales 800, Colonia Lomas Virreyes, 11000, Miguel Hidalgo, Ciudad de México

frog_s80@hotmail.com

RESUMEN

ANTECEDENTES: Los recién nacidos prematuros tienen un sistema de defensa antioxidante reducido y niveles disminuidos de vitaminas antioxidantes como la vitamina E, β -caroteno, etc. Este desequilibrio tiene una implicación en el desarrollo de retinopatía de prematuro (ROP), enterocolitis necrozante y displasia broncopulmonar.

OBJETIVO: Se investigó el efecto de la suplementación oral con vitamina E sobre la retinopatía del prematuro y el daño oxidativo en recién nacidos con peso inferior a 1.500 g con síndrome de dificultad respiratoria (RDS).

MÉTODOS: Noventa recién nacidos prematuros con diagnóstico de SDR fueron asignados al azar y asignados a dos grupos: el grupo control (C) sin vitamina E (n = 42) y el grupo tratado (T), con vitamina E 25 UI administrada oralmente (n = 48). Se tomaron muestras de sangre para medir el daño oxidativo, la capacidad antioxidante total y la vitamina E, antes del inicio de la vitamina E y los días 15 y 28. Los resultados se examinaron mediante la prueba t de Student y la prueba de chi cuadrado y para evaluar Eficacia de la vitamina E, RR, con IC del 95%.

RESULTADOS: En el grupo tratado, 6 pacientes (12,5%) desarrollaron retinopatía del prematuro (ROP), mientras que en el grupo control 13 (31%) lo hicieron; El grupo suplementado con vitamina E mostró una reducción de la ROP (RR: 0,31; IC del 95%: 0,10; 0,93) y disminución de los valores de carbonilación y peroxidación lipídica ($p < 0,001$), así como aumento de la capacidad antioxidante total. No se observaron complicaciones como resultado de la suplementación.

CONCLUSIONES: La suplementación oral con vitamina E reduce el estrés oxidativo y la retinopatía del desarrollo de la prematuridad. El daño oxidativo a la retina fue moderado y reversible, ya que la lesión puede haberse limitado a moléculas sin apoptosis celular o muerte.

PALABRAS CLAVE: Vitaminas Antioxidantes, Daño Oxidativo, Capacidad Antioxidante Total, Peroxidación de Lípidos, Retinopatía de la Prematuridad

ABSTRACT

BACKGROUND: Preterm newborns have reduced antioxidant defence system and decreased levels of antioxidant vitamins such as vitamin E, β -carotene, etc. This imbalance has an implication in the development of retinopathy of prematurity (ROP), necrotizing enterocolitis and bronchopulmonary dysplasia.

OBJECTIVE: We investigated the effect of vitamin E oral supplementation on retinopathy of prematurity and oxidative damage in newborns weighing <1,500 g with respiratory distress syndrome (RDS).

METHODS: Ninety preterm newborns with a RDS diagnosis, were randomized and assigned into 2 groups: the control (C) group without vitamin E (n = 42) and the treated group (T), with vitamin E 25 IU orally administered (n = 48). Blood samples were taken to measure oxidative damage, total antioxidant capacity and vitamin E, prior to the start of vitamin E and on days 15 and 28. The results were examined using Student's t-test, and the chi-square test, and to evaluate vitamin E efficacy, RR, with 95% CI.

RESULTS: In the treated group, 6 patients (12.5%) developed retinopathy of prematurity (ROP), whereas in the control group 13 (31%) did; the vitamin E-supplemented group showed a reduction in ROP (RR: 0.31; 95% CI: 0.10, 0.93) and decreased values regarding carbonylation and lipid peroxidation ($p < 0.001$), as well as increased total antioxidant capacity. No complications were observed as a result of supplementation.

CONCLUSIONS: Vitamin E oral supplementation reduces oxidative stress and retinopathy of prematurity development. Oxidative damage to the retina was moderate and reversible, since the injury may have been limited to molecules without cell apoptosis or death.

Key Words: Antioxidant Vitamins, Oxidative Damage, Total Antioxidant Capacity, Lipid Peroxidation, Retinopathy of Prematurity

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ORAL DE VITAMINA E SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO Y LA RETINOPATÍA DEL PREMATURO EN RECIÉN NACIDOS PRETERMINO MENORES DE 1500 GRAMOS. ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO

Silvia Romero-Maldonado^{1,2}, Araceli Montoya-Estrada³, Yessica Dorin Torres-Ramos³, Alberto Martín Guzmán-Grenfell³, Mario David Sánchez-Mendez⁴, Javier Mancilla-Ramírez^{2,4}, Maricruz Tolentino-Dolores⁵, Manuel Salgado-Valladares⁶, Juan José Hicks⁷.

¹Unidad de Cuidados Intermedios al Recién Nacido (UCIREN), Instituto Nacional de Perinatología. Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER), México. ²Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, México. ³Departamento de Inmuno-Bioquímica, Instituto Nacional de Perinatología, Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER), México. ⁴Coordinación de Investigación en Ginecología y Obstetricia, Hospital General de México. ⁵Departamento de Investigación en Nutrición, Instituto Nacional de Perinatología, Isidro Espinosa de los Reyes (INPerIER). ⁶Consulta Externa de Oftalmología Pediátrica, Instituto Nacional de Perinatología (INPerIER). ⁷Dirección General de Políticas de Investigación en Salud, Comisión Coordinadora de Institutos Nacionales de Salud y Hospitales de Alta Especialidad, Secretaría de Salud, México

INTRODUCCIÓN

La tasa de supervivencia de los recién nacidos de muy bajo peso al nacer ha aumentado considerablemente en las últimas dos décadas. Sin embargo, la displasia broncopulmonar (DBP), la retinopatía del prematuro (ROP), la hemorragia intraventricular-periventricular (IVH) y la enterocolitis necrotizante continúan siendo problemas importantes para los recién nacidos de bajo peso al nacer (1).

Además de la prematuridad, el estrés oxidativo ha sido implicado en la patogénesis de ROP y BPD(2). Esta patogénesis se ha asociado con daño tisular debido a una generación excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS) (3). En el caso de ROP, se ha propuesto que probablemente sea el resultado de diferentes tipos de estrés de oxígeno y alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados en fotorreceptores.

La fisiopatología del BPD no se entiende completamente; es un proceso complejo donde hay una acción sinérgica de varios factores en un cuerpo inmaduro que sufre varios insultos mientras que los mecanismos de defensa no están completamente desarrollados (4,5,6). El estímulo inicial que activa el proceso inflamatorio puede ser la acción de los radicales libres secundarios a la oxigenoterapia, el barotrauma, el volutrauma, los agentes infecciosos y otros estímulos, que provocan esta enfermedad en un pulmón todavía en desarrollo (7,8). La investigación en décadas anteriores probó diferentes vitaminas y antioxidantes, incluida la vitamina E, para la prevención de la DBP, pero estas investigaciones y el uso terapéutico se detuvieron debido a complicaciones con sepsis y enterocolitis necrotizante, causadas por presentaciones orales de vitamina E, ya que contienen como Excipiente

cualquiera de los componentes siguientes: polietilenglicol, propilenglicol, etanol, o polisorbato 80, y estos excipientes pueden generar efectos adversos en recién nacidos prematuros (9,10,11). Sin embargo, estas presentaciones no fueron utilizadas en este proyecto para prevenir el desarrollo de enterocolitis necrotizante y, por otro lado, estas formulaciones no están comercialmente disponibles en México.

En este estudio se evaluó el efecto de la vitamina E (Eternal) suplementada oralmente a dosis de 25 UI durante 28 días para la prevención de ROP y estrés oxidativo en recién nacidos prematuros con un peso <1500 g en comparación con un grupo control.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio: Estudio clínico aleatorizado, doble ciego, realizado en una unidad de cuidados intensivos de la Ciudad de México

Pacientes

Los recién nacidos prematuros <1.500 g de un hospital terciario fueron trasladados a unidades intermedias o de cuidados intensivos de acuerdo con sus necesidades médicas, incluyendo cualquier tipo de soporte ventilatorio. Todos ellos tenían un diagnóstico de síndrome de dificultad respiratoria (RDS), y fueron tratados con la técnica de INSURE, algunos requiriendo ventilación mecánica. Después de la ventilación mecánica, los pacientes continuaron con CPAP nasal o puntas nasales. Todo el tiempo fueron monitorizados con monitor de oxígeno transcutáneo para mantener la saturación de O₂ entre 90 y 93%. En el momento del nacimiento, seguimos las pautas de reanimación neonatal,

seguidas de suministro controlado de oxígeno. Recién nacidos pretérmino con malformaciones congénitas, incompatibilidad e isoinmunización Rh, hidrops no inmune o inmune fetal, hemorragia intraventricular III / IV y neonatos nacidos de madres con púrpura trombocitopenica fueron excluidos.

Los 90 recién nacidos pretérmino fueron seleccionados aleatoriamente y asignados a dos grupos: el grupo control (C) (sin vitamina E, n = 42) y el grupo tratado (T) con vitamina E (25 UI, administrado por vía oral) (n = 48). El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética (registro 212250-10231) del Instituto Nacional de Perinatología (INPerER) y se obtuvo el consentimiento informado de los padres de los niños.

Estrategia de tratamiento: Aleatorización y ocultamiento de la asignación

Los lactantes fueron asignados de forma prospectiva y aleatoria a uno de los dos grupos usando una tabla de dígitos alatorios, que fue manejada por el personal de Farmacia del Hospital; Los miembros del personal no participaron en el cuidado de los pacientes y se adhirió a los procedimientos de ensayo adecuados. El manejo nutricional en ambos grupos fue similar: desde el momento del nacimiento, los neonatos recibieron una solución proteica (2,4 / kg / día) y de 12 a 24 h más tarde, recibieron nutrición parenteral completa (3,5 g / kg / día proteína, 3 G / kg / día de lípidos y 4 mg / kg / min de glucosa, hasta 10 mg / kg / min). La alimentación trófica de los neonatos prematuros se inició entre las 36 y las 48 h después del nacimiento.

El diagnóstico de DBP se estableció a los 28 días de vida según las pautas del taller del Instituto Nacional de Salud Infantil y Desarrollo Humano (NICHD). La severidad a las 36 semanas de edad gestacional se clasificó en las tres etapas siguientes: leve, cuando el paciente no requirió oxígeno; Moderada, cuando el paciente requirió 30% de oxígeno; y severo cuando el paciente requirió > 30% de oxígeno, tenía presión positiva continua en las vías respiratorias (CPAP) nasal, o ventilación mecánica (12). Para el primer diagnóstico de retinopatía, la evaluación oftalmológica se realizó en el momento del nacimiento y cada 15 días hasta el alta. La retinopatía se agrupa de acuerdo con la clasificación internacional que utiliza la siguiente nomenclatura común para clasificar ROP: La zona I corresponde al círculo de la retina posterior donde el centro es el disco óptico y el radio es la distancia desde el borde de la papila a la Fovea; La zona II corresponde al círculo concéntrico exterior cuyo radio se extiende desde el borde de la Zona I hasta el ora serrata nasal (en la posición

de las 3 en punto en el ojo derecho y 9 en el ojo izquierdo) y en la zona cercana El ecuador a la zona temporal anatómica. La zona III corresponde a la media luna de la retina temporal anterior a la zona II (13).

Los 90 prematuros fueron asignados aleatoriamente a dos grupos: el control (n = 42) y el tratado (T) (vitamina E, n = 48). El grupo T recibió vitamina E administrada por vía oral (25UI) dividida en dos dosis de 12,5 UI cada 12 h, 72 h después del nacimiento, durante 28 días. La primera muestra recogida de los recién nacidos se consideró como la línea de base, obteniéndose muestras posteriores a los 15 y 28 días de vida. También se realizó un seguimiento del estado clínico y se registraron variables demográficas, que incluyeron edad gestacional, sexo, peso, talla, días de oxígeno, atención prenatal, si los recién nacidos recibieron esteroides prenatal y postnatal, tipo de ventilación mecánica y administración de surfactante (Tabla 1). La eficacia y la seguridad de la administración de vitamina E se determinó evaluando la presencia de sepsis y / o enterocolitis necrotizante.

ANÁLISIS BIOQUÍMICO

Se obtuvieron muestras de sangre (0,3 ml) de los grupos control y tratados mediante venopunción y se centrifugaron. Se obtuvieron lisados de plasma y glóbulos rojos (RBC) y se utilizaron en el análisis bioquímico por daño oxidativo (OD) debido a la capacidad de detectar modificaciones oxidativas en las células (14).

Para el ensayo de capacidad antioxidante total de plasma (TAC), se utilizó un método espectrofotométrico de capacidad antioxidante reductor de iones cúpricos (CUPRAC), que resultó en absorbancia a 450 nm (15). Para evaluar el lipohidroperóxido (LHP), se utilizó 1-metil-2-fenilindol (Sigma-Aldrich, MO) como patrón. Se usaron alícuotas de lisado de eritrocitos para medir el malondialdehído (MDA) a 586 nm, con los valores obtenidos expresados como carbocianina pmol por mg de peso seco (16). Para evaluar los peróxidos lipídicos de lisado de eritrocitos, se utilizaron las condiciones de ensayo descritas por El-Saadani, que se pueden medir fotométricamente a 360 nm (17). El daño proteico se evaluó determinando el contenido en grupos carbonilo del plasma mediante tratamiento con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH), que reacciona con los derivados de la proteína carbonilo para formar hidrazonas estables que se absorben a 370 nm (18).

A menos que se especifique lo contrario, todos los reactivos usados en este estudio se obtuvieron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, EE.UU.), y vitamina E (di-alfa tocoferol (Eternal)) se obtuvo de Bayer.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables continuas se compararon utilizando la prueba t de Student y el test U de Mann-Whitney para variables cuantitativas distribuidas libremente; Se utilizó la prueba del chi cuadrado para determinar las diferencias categóricas entre los grupos. La significancia se definió en $p < 0,05$ y se utilizaron significados de dos caras. Se determinó el riesgo relativo (RR) con el correspondiente intervalo de confianza del 95% (IC) (software SPSS, versión 19.0).

Todos los experimentos se realizaron por duplicado. Los datos de daño oxidativo se expresan como la media \pm desviación estándar (DE). Los resultados se examinaron utilizando la prueba t de Student con el programa Prism 5.0 (GraphPad, San Diego, CA, EE.UU.). Se consideró que un valor de $p < 0,05$ era significativo.

RESULTADOS

Las características clínicas de las madres de recién nacidos prematuros estudiados se muestran en la Tabla 1. Como se mencionó anteriormente, los recién nacidos prematuros se clasificaron en los 2 grupos siguientes: los grupos C ($n = 42$) y T ($n = 48$). Los datos clínicos de ambos grupos de recién nacidos se muestran en la Tabla 2.

La Tabla 2 muestra las características clínicas evaluadas de los recién nacidos en la columna de la derecha y el valor numérico en la fila correspondiente. Con respecto a las características generales de la población estudiada, no se identificaron diferencias en las semanas de gestación, sexo, índice ponderal o peso ($p > 0,054$). No hubo diferencias significativas cuando se comparó el grupo de control con el grupo T.

El manejo nutricional en ambos grupos fue similar; Desde el nacimiento, los neonatos recibieron una solución proteica (3,5 g / kg / día), que se inició de acuerdo con la nutrición parenteral total a las 24 h de vida. No hubo diferencias significativas en la ingesta calórica con 130 ± 10 kcal en el grupo control y $127 \pm 18,4$ kcal en el grupo tratado ($p > 0,18$). En cuanto al daño oxidativo, el grupo tratado mostró una disminución significativa en comparación con el grupo control; Además, la capacidad antioxidante total fue mayor en el grupo tratado ($p < 0,05$).

La Figura 1-A muestra una disminución significativa ($p < 0,0001$) del 76,3% en la formación de lipohidroperóxido. Los LHP se forman debido a la interacción de ROS con ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), que afecta sus

características fisicoquímicas y funcionales antes de descomponer el ácido graso. La Figura 1-B muestra una correlación inversa significativa ($p < 0,01$, $r = -0,40$) con un aumento de la capacidad antioxidante total (TAC). La Figura 2-A muestra cómo la producción de moléculas MDA altamente reactivas como consecuencia de la ruptura de LHP durante el proceso lipoperoxidativo disminuyó en un 53,3% en los recién nacidos prematuros tratados ($p < 0,0001$); Una correlación inversa también se identificó con TAC ($p < 0,05$, $r = -0,44$) (Figura 2-B). La generación de MDA está asociada con la lesión de la proteína porque MDA se incorpora a las cadenas de proteínas en los grupos amina libres que forman nuevos grupos carbonilo (carbonilación) en las moléculas de proteína.

La Figura 3-A muestra una disminución significativa en la carbonilación de proteínas en el grupo tratado ($p < 0,001$). El valor numérico del grupo de control fue de $3,96 \pm 1,32$ en comparación con $2,87 \pm 0,93$ nmol de DNPH / mg de proteína obtenida del grupo T. La Figura 3-B muestra una correlación inversa significativa con la capacidad antioxidante total ($p < 0,05$, $r = -0,36$).

Se analizó la eficacia antioxidante de la vitamina E por sexo, y se compararon los valores basales obtenidos el día 1 con los valores obtenidos al día 28; Los recién nacidos prematuros femeninos mostraron un 13% más de eficacia antioxidante que los niños varones. La disminución de la carbonilación también fue significativa ($p < 0,001$) (Figura 4).

Junto con la disminución de la generación de LHP y MDA que se midió en los neonatos tratados, la vitamina E debe considerarse directamente responsable de la disminución del desarrollo de ROP en los recién nacidos prematuros examinados en el presente estudio (Tabla 3). La presencia de ROP fue significativamente diferente entre los grupos control y T ($p < 0,01$). En el grupo T, 6 (12,5%) prematuros presentaron ROP; Mientras que en el grupo control se identificaron 13 casos (31%). ROP disminuyó en los recién nacidos del grupo T (RR: 0,31; IC del 95%: 0,10; 0,93), y no se observó sepsis neonatal o enterocolitis necrotizante como efectos colaterales. No hubo un efecto de reducción de ROP de la edad gestacional (GA) de los recién nacidos prematuros de menos de 28 semanas ($p < 0,058$; RR: 1,68; IC del 95%: 0,47; 1,0). En cuanto a la concentración de vitamina E, fue mayor en el grupo tratado al final del tratamiento. (Tabla 3)

DISCUSIÓN

El estrés oxidativo (SO) ocurre al nacer en todos los recién nacidos; Es una consecuencia del desafío hiperóxico que resulta de la transición del

ambiente intrauterino hipóxico a la vida extrauterina. Las fuentes ROS, como la inflamación, la hipoxia-hiperoxia, la isquemia, el glutamato y la liberación de hierro libre, aumentan el SO durante el periodo perinatal. Además, los bebés prematuros han reducido las defensas antioxidantes que son incapaces de contrarrestar los efectos nocivos de las especies reactivas de oxígeno, lo que lleva a "enfermedades relacionadas con los radicales libres (FR)" en los recién nacidos, incluyendo ROP y BPD.

Evidencia emergente sugiere que los procesos de lesión de pulmón y retina que conducen a BPD y ROP ocurren dentro de horas a días desde el parto. Además, el daño oxidativo (DO) es uno de los principales factores que contribuyen a estos procesos patológicos, que se desarrollan fácilmente debido a la respuesta antioxidante inmadura atribuible a la prematuridad del recién nacido. Los mecanismos de defensa antioxidante del cuerpo incluyen enzimas celulares y extracelulares (por ejemplo, superóxido dismutasa, catalasa, glutatión reductasa y peroxidasa) y desactivadores de radicales libres (por ejemplo, glutatión, vitaminas C y E y carotenoides, además de albúmina sérica y productos metabólicos tales como ácido úrico y bilirrubina). En los seres humanos, las enzimas antioxidantes se expresan a una alta concentración sólo al final de la gestación, en preparación para el entorno extrauterino relativamente hiperóxico (1).

En el recién nacido prematuro, las defensas antioxidantes son apoyadas casi exclusivamente por moléculas antioxidantes circulantes, y la vitamina E es la principal vitamina liposoluble responsable de la protección de las membranas celulares contra la peroxidación. Como un compuesto lipofílico, la vitamina E se acumula en las lipoproteínas circulantes, membranas celulares y depósitos grasos, y reacciona con los radicales libres y el oxígeno molecular. Por lo tanto, protege los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de la peroxidación (20,21), que es fundamental para la patogénesis de ROP, porque la retina se compone de niveles elevados de PUFAs, tales como ácido docosahexanoico, ácido cis-araquidónico y fosfoglicérido de colina (21, 22).

Durante el embarazo, la transferencia placentaria de vitamina E al feto es limitada, lo que indica que la leche materna es la única fuente de este nutriente para los neonatos amamantados exclusivamente. Para aumentar la cantidad de vitamina E en recién nacidos prematuros en el presente estudio, se agregó vitamina E administrada por vía oral (25 UI), ya que esta ingesta provee una ruta importante para suministrar al recién nacido la protección antioxidante esencial. Los hallazgos demostraron la eficacia antioxidante de la vitamina

suplementada en recién nacidos prematuros, que mostraron una disminución significativa en la oxidación molecular en todos los biomarcadores medidos en comparación con el grupo control.

Los cambios proteicos inducidos por los procesos oxidativos afectan a varias funciones, como el reconocimiento inmunológico, las actividades enzimáticas y hormonales (23), así como los papeles receptores y estructurales. Además del aumento de la lipoperoxidación, los cambios en las proteínas pueden afectar la funcionalidad de la retina debido a las consecuencias de la DO.

Con respecto a la disminución de la lesión oxidativa mostrada en las Figuras 1 a 3, estos efectos pueden ser similares al aumento de la capacidad captadora demostrada por el uso de una mezcla de agentes antioxidantes (MAOx) [10], lo que inactiva las interacciones ROS y Capacidad antioxidante plasmática (24).

Se cree que los ROS desempeñan un papel importante en la patogénesis de las lesiones pulmonares, como el BPD y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, en recién nacidos y adultos (25,26,27). El daño causado por los oxidantes en el aire se considera predominantemente mediado por los radicales (28). Uno de los primeros objetivos de los oxidantes aerotransportados es el pulmón.

El agente tensoactivo alveolar, los glóbulos rojos, las células epiteliales y las células endoteliales del pulmón contienen altas concentraciones de sustratos para los oxidantes. El surfactante alveolar es el primer objetivo de los oxidantes en la interface de aire. El agente tensoactivo contiene dipalmitoilfosfatidilcolina, colesterol y fosfolípidos poliinsaturados, que desempeñan un importante papel funcional. Los neonatos prematuros que desarrollarán DBP tienen diferencias cuantitativas en la oxidación de lípidos y proteínas en comparación con los lactantes que no desarrollan DBP (29).

El incremento en la lipoperoxidación mostrado en las Figuras 1 y 2 demostró que en el grupo suplementado de recién nacidos prematuros la generación de LHP y MDA disminuyó en comparación con el grupo control; Sin embargo, el papel antioxidante protector de la vitamina E no evitó la DBP, potencialmente porque el daño oxidativo en los neonatos prematuros se caracteriza por la inflamación y la deficiencia de surfactante, así como la destrucción apoptótica de las células alveolares de tipo II (30).

Aunque los efectos protectores de la vitamina E contra el estrés oxidativo y la inflamación han sido bien documentados, y se ha demostrado un aumento de los niveles mediante el uso de dexametasona (31), se desconoce en gran medida

si una deficiencia temporal de vitamina E predispone a los individuos a lesiones pulmonares o si la inflamación, Deficiencia y apoptosis de células de tipo II están causalmente relacionadas con la deficiencia de vitamina E.

Las interpretaciones de estudios previos han sido contradictorias con respecto a las características de un patrón específico de estrés oxidativo en dos de las enfermedades FR-oxidativas más comunes del recién nacido prematuro. En el estudio actual, los biomarcadores de daño oxidativo disminuyeron significativamente debido a la suplementación con vitamina E, que previno la ROP pero no la DBP. Es posible que la liberación del feto de un ambiente intrauterino relativamente hipóxico con una PO₂ de 20-25 mm / Hg a un ambiente extrauterino tóxico normal con una PO₂ de 100 mm/Hg incremente el estrés oxidativo (20).

Se cree que este aumento de cuatro a cinco veces en la tensión de oxígeno induce una gran producción de ROS; además, el plasma neonatal de recién nacidos prematuros es deficiente en antioxidantes, y las enzimas antioxidantes aún no están completamente expresadas. La gravedad del estrés oxidativo fue diferente entre ROP y BPD. La lesión oxidativa de ROP disminuyó después de 28 días, y el daño retinal volvió a la normalidad como consecuencia de la suplementación antioxidante. En contraste, la gravedad del estrés oxidativo BPD es similar a la isquemia-reperfusión, en la que la generación de ROS puede desencadenar la muerte por apoptosis, necrosis o mecanismos de muerte celular entre estos extremos. La suplementación con vitamina E no fue suficiente para prevenir la DBP.

Este tipo de lesión oxidativa intensiva se ha controlado con éxito con la utilización antes del procedimiento de tratamiento y con la administración de una mezcla antioxidante (MAOx) en la isquemia-reperfusión después de la trombólisis terapéutica en pacientes humanos (10).

La suplementación con vitamina E en recién nacidos prematuros <1500 g puede reducir la incidencia de retinopatía del prematuro. Sin embargo, en los recién nacidos prematuros <28 semanas de gestación, resulta en una reducción no estadísticamente significativa de la ROP, probablemente debido a que la vitamina E no aumentó lo suficiente, aunque hay una diferencia estadísticamente significativa. Este aumento insuficiente de vitamina E se debió a la mala absorción oral, debido a la inmadurez del tracto digestivo de la prematuridad, que tiene una pobre absorción de grasa y las sales biliares requieren ser transportados por lipoproteínas de baja densidad (32).

CONCLUSIÓN

Los resultados aquí presentados proporcionan una fuerte evidencia de la ventaja de la adición oral de vitamina E:

- 1) Disminución del daño oxidativo en los lipohidroperóxidos (LHP) y malondialdehído (MDA), que destaca la carbonilación de proteínas al considerar las funciones biológicas;
- 2) Aumento de la capacidad antioxidante total (TAC);
- 3) No hay evidencia de complicaciones asociadas con sepsis o enterocolitis necrotizante;
- 4) La suplementación con vitamina E impide el desarrollo de ROP en recién nacidos prematuros <1.500 g, pero no en niños menores de 28 semanas de edad gestacional
- 5) La suplementación con vitamina E no protege contra el desarrollo de BPD.

Es posible que la terapia antioxidante pueda ser útil en el manejo de neonatos con problemas relacionados con el estrés oxidativo, pero se requieren más investigaciones bioquímicas para definir la terapia antioxidante más efectiva. Finalmente, se propone la utilización de una mezcla de cuatro o más antioxidantes con diferentes potenciales redox para la prevención de la DBP; Este enfoque nos permitiría obtener un proceso redox constante de los agentes químicos, lo que puede producir una eficiencia constante con mayor capacidad antioxidante. Mientras que otros estudios deben examinar el uso de otros antioxidantes, el uso potencial de MAOx está ahora abierto al estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no tienen conflictos de intereses que revelar.

ABREVIATURAS:

SO: Estrés oxidativo; ROP: retinopatía de la prematuridad; DBP: displasia broncopulmonar; DO: daño oxidativo; PN: recién nacidos prematuros; C: grupo de control; T: grupo tratado; UI: unidades internacionales; LHP: lipohidroperóxidos; MDA: malondialdehído; TAC: capacidad antioxidante total; ROS: especies reactivas del oxígeno; NICHD: Instituto Nacional de Salud Infantil y Desarrollo Humano; CPAP: presión positiva continua en las vías respiratorias; CUPRAC: reducción de iones cúpricos capacidad antioxidante; SD: desviación estándar; AGPI: ácidos grasos poliinsaturados; MAOx: mezcla de agentes antioxidantes; RBC: glóbulos rojos.

REFERENCIAS

1. Rogers S, Witz G, Anwar M, et al. Antioxidant Capacity and Oxygen Radical Diseases in the

- Preterm Newborn. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2000;154:544-48.
2. Katz ML, Robison WJ Jr. Autoxidative damage to the retina: potential role in retinopathy of prematurity. *Birth Defects Orig Artic Ser* 1988;24(1):237-48.
 3. Penn JS. Oxygen-induced retinopathy in the rat: possible contribution of peroxidation reactions. *Doc Ophthalmol* 2001;74(3):179-86.
 4. Kinsella JP, Greenough A, Abman S. Bronchopulmonary dysplasia. *Lancet* 2006;367:1421-31.
 5. Cunha GS, Mezzacappa Filho F, Ribeiro JD. Fatores maternos e neonatais na incidência de displasia broncopulmonar em recém-nascidos de muito baixo peso. *J Pediatr* 2003;79:550-56.
 6. Tapia JL, Agost D, Alegria A, et al. Displasia broncopulmonar: Incidência, fatores de risco e utilização de recursos em uma população sul-americana de recém-nascidos de muito baixo peso. *J Pediatr* 2006;82:15-20.
 7. Hulsman AR, Van der Anker JN. Evolution and natural history of chronic lung disease of prematurity. *Monaldi Arch Chest Dis* 1997;52:272-77.
 8. Bancalari E, Claure N, Sosenko IRS. Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology and definition. *Semin Fetal Neonatal Med* 2003;8:63-71.
 9. Bjelakovic G, Nikolova D, Gludd LL, et al. Simonetti RG, Gludd C: Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;14:3:CD007178.
 10. Johnson L, Bowen FW Jr, Abassi S. Relationship of prolonged pharmacologic serum levels of vitamin E to incidence of sepsis and necrotizing enterocolitis in infants with birth weight 1,500 grams or less. *Pediatr* 1985;75(4):619-38.
 11. Brion LP, Bell EF, Raghuvier TS. Suplementación con vitamina E para la prevención de la morbilidad y la mortalidad en recién nacidos prematuros. *Base de datos Cochrane de Revisiones sistemáticas* 2007, Número 4, artículo no. CD003665. DOI:1002/1451858.CD003665
 12. Jobe AH and Bancalari E: Bronchopulmonary Dysplasia, NICHD/ORD Workshop Summary. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1723-1729
 13. An International Committee for the classification of retinopathy of prematurity The international classification of retinopathy of prematurity revisited. *Arch Ophthalmol* 2005;123:1991-999
 14. Montoya-Estrada A, Torres-Ramos YD, Flores-Pliego A, et al. Urban PM 2.5 activates GAPDH and induces RBC damage in COPD patients. *Front Biosci*. 2013;5:638-49.
 15. Apak R, Guclu K, Ozyurek M, et al. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: The CUPRAC method. *Free Radic Res*. 2005;39(9):949-61.
 16. Gerard-Monnier D, Erdelmeier I, Reganrd K, et al. Reactions of 1-Methyl-2-phenylindole with Malondialdehyde and 4-Hydroxyalkenals. Analytical Applications to a Colorimetric Assay of Lipid Peroxidation. *Chem Res Toxicol*. 1998;11(10):1176-183.
 17. El-Saadani M, Esterbauer H, El-Sayed M, et al. A spectrophotometric assay for lipid peroxides in serum lipoproteins using a commercially available reagent. *J Lipid Res*. 1989;30:627-30.
 18. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003;329(1-2):23-38.
 19. Perrone S, Negro S, Tataranno ML, et al. Oxidative stress and antioxidant strategies in newborns. *J Matern fetal Neonatal Med*. 2010;23(3):63-65.
 20. Didenco S, Gillingham MB, Go MB, et al. Increased vitamin E intake is associated with higher alpha-tocopherol concentration in the maternal circulation but higher alpha-carboxyethyl hydroxychroman concentration in the fetal circulation. *Am J Clin Nutr*. 2011;93:368-73.
 21. Debier C, Larondolle Y. Vitamins A and E: metabolism roles and transfer to offspring. *Br J Nutr*. 2005;93:153-74.
 22. Rivera JC, Sapienza P, Joyal JS, et al. Understanding Retinopathy of Prematurity: Update on Pathogenesis. *Neonatology*. 2011;100:343-53.
 23. Montes-Cortes DH, Hicks JJ, Ceballos-Reyes GM, et al. Chemical and functional changes of human insulin by in vitro incubation with blood from diabetic patients in oxidative stress. *Metabolism*. 2010;59(7):935-42.
 24. Olivares-Corichi IM, Ceballos-Reyes GM, Medina-Santillan R, et al. Increase of human antioxidant capacity with a novel formation of antioxidants. *Proc West Pharmacol Soc*. 2003;46:45-47.

25. Sierra-Vargas MP, Guzman-Grenfell AM, Blanco-Jimenez S et al. Airborne particulate matter PM_{2.5} from Mexico City affects the generation of reactive oxygen species by blood neutrophils from asthmatics: an in vitro approach. *J Occup Med Toxicol*. 2009;29:4-17.
26. Torres-Ramos YD, Garcia-Guillen ML, Olivares-Corichi IM, Hicks JJ. Correlation of Plasma Protein Carbonyls and C-Reactive protein with GOLD Stage Progression in COPD Patients. *Open Respir Med J*. 2009;3:61-66.
27. Torres-Ramos YD, Montoya-Estrada A, Guzman-Grenfell AM, et al. Urban PM_{2.5} induces ROS generation and RBC damage in COPD patients. *Front Biosci*. 2011;E3:808-17.
28. Gitto E, Pellegrino S, Guitto P, et al. Oxidative stress of the newborn in the pre-and postnatal period and the clinical utility of melatonin. *J Pineal Res*. 2000;46:128-39.
29. MacNee W, Rahman I. Oxidants and antioxidants as therapeutic targets in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1990;160:S58-S65.
30. Amin SB, Laroia N, Sinkin RA, et al. Effect of dexamethasone Therapy on Serum Vitamin E Concentrations in Premature Infants with Bronchopulmonary Dysplasia. *J Perinatol*. 2003;23:552-55.
31. Halliwell B. Cell culture stress and antioxidants: avoiding pitfalls. *Biomed J*. 2014;37(3):99-105.
32. Pacifici GM. Effects of vitamin E in neonates and young infants. *Int J Pediatr* 2016;4:1745

FIGURAS

Figura 1-A. La oxidación de lípidos medida como LHP disminuye (0.007) en el grupo tratado. En contraste, el grupo de control generó 4,2 veces más LHP (0,030 ± 0,01 nmol l3 / mg de peso seco).

Figura 1-B. Correlación inversa de LHP con capacidad antioxidante total (TAC) (p <0,01, r = -0,40).

Figura 2-A. Una disminución significativa del 53% en el producto de la peroxidación lipídica; Malondialdehído (p <0,0001) en comparación con el grupo control (0,015 ± 0,007). Los datos del grupo tratado fueron 0,007 ± 0,005 pmol de carbocianina / mg de peso seco.

Figura 2-B. Correlación inversa de MDA con TAC (p <0,05, r = -0,44).

Figura 3-A. Disminución de la carbonilación de proteínas en el grupo suplementado (p <0,001). El valor numérico en el grupo de control fue de 3,96 ± 1,32 en comparación con 2,87 ± 0,93 nmol de DNPH / mg de proteína en el grupo experimental.

Figura 3-B. Correlación inversa significativa entre la carbonilación y la capacidad antioxidante total (p <0,05, r = -0,36).

Figura 4. La carbonilación de proteínas medida después del parto fue similar entre los recién nacidos de ambos sexos. Sin embargo, los suplementos de vitamina E y C presentaron valores más altos (2,56) en recién nacidos varones en comparación con recién nacidos (1,87).

Tabla 1. Características demográficas maternas y del recién nacido

	Grupo control	Grupo tratado	Total	SS
	n = 42	n = 48	90	
Masculino/Femenino	23/19	22/26	45/45	NS
Peso (g)	1164 ± 203	1087 ± 194		NS
Edad gestacional (Semanas)	30.1 ± 2	30.0 ± 2		NS
Sepsis nosocomial	13	5	48	NS
Neumonía Nosocomial	1	2	3	NS
Membrana Hialina	48	42		NS
Apnea	11	15	26	NS
Barotrauma	1	5	6	NS
Falla Renal	1	1	2	NS
Ventilación Mecánica(días)	5.0 ± 7.1	4.5 ± 7.6		
Concentración máxima FIO2(%)	49.8	49.5		NS
Requerimientos de Oxígeno (h)	397 ± 296	470 ± 256		NS

Los datos son expresados en medias ± desviación estándar (SD); chi cuadrada para variables cualitativas. p-valor <0.05NS: no significativo; SS: estadísticamente significativo..

Tabla 2. Recién nacidos pretermino' resultados clínicos

	Grupo Control	Grupo Tratado	Total	p-valor	RR	95% CI
	n = 42	n = 48	N = 90			
ROP*	13 (31%)	6(12.5%)	19		0.31	0.10, 0.93
ROP Severidad	12= Stage I 1= Stage II	5= Stage I 1= Stage II	17			
ROP <28 semanas GA	11/16	5/13	16/29	< 0.14	0.5	0.21, 1.18
DBP†	27 (64.3%)	21 (43.7%)	48		1.0	0.42, 2.40
Hemorragia Interventricular	5 (11.9%)	4 (8.3)	9		0.673	
Sepsis	22	28	50	< 0.058	1.68	0.473, 1.0
Concentración de vitamina E						
Antes	1.09 ± 1.5	1.03 ± 1.0		< 0.97		
15 días	1.20 ± 1.5	1.52 ± 0.7		< 0.27		
28 días	1.37 ± 1.5	1.71 ± 1.1		< 0.05		

*ROP=Retinopatía del prematuro. Displasia broncopulmonar. Estadísticamente significativo a p-valor <0.05. GA: Edad gestacional.