



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
SECRETARÍA DE SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

**“ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS Y URINARIAS DE
ARGININA DE LOS RECIEN NACIDOS PREMATUROS DEL INSTITUTO
NACIONAL DE PEDIATRÍA AL INGRESO Y AL EGRESO DE SU
HOSPITALIZACIÓN”**

TESIS
PARA OBTENER EL TÍTULO DE
**ESPECIALISTA EN
PEDIATRÍA**

PRESENTA:

DRA. ANAID YADIRA CRESPO LOPEZ

TUTOR:

DRA. MARCELA VELA AMIEVA

CO-TUTOR:

MTRA. ISABEL IBARRA GONZALEZ

ASESORES METODÓLOGICOS:

DRA. PATRICIA CRAVIOTO QUINTANA

FIS. MAT. FERNANDO GALVÁN CASTILLO

CIUDAD DE MÉXICO

01 DE FEBRERO 2019





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

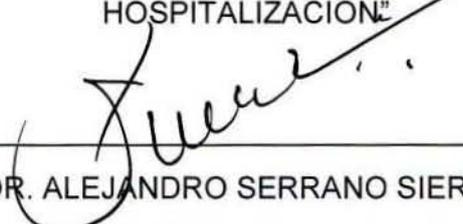
DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TÍTULO DE TESIS

"ANÁLISIS DE LAS CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS Y URINARIAS DE ARGININA DE LOS RECIÉN NACIDOS PREMATUROS DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA AL INGRESO Y AL EGRESO DE SU HOSPITALIZACIÓN"



DR. ALEJANDRO SERRANO SIERRA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE
ESPECIALIZACIÓN EN PEDIATRÍA



DR. JOSE M. REYNES MANZUR
DIRECTOR DE ENSEÑANZA



DR. MANUEL ENRIQUE FLORES LANDERO
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO



DRA. MARCELA VELA AMIEVA
TUTOR



DRA. PATRICIA CRAVIOTO QUINTANA


FIS. MAT. FERNANDO GALVÁN CASTILLO
ASESORES METODOLÓGICOS

ÍNDICE

0.0 PRESENTACIÓN	1
0.1 CARÁTULA	1
0.2 PRESENTACIÓN	2
0.3 ÍNDICE	3
1.0 MARCO TEÓRICO	5
1.1 ANTECEDENTES	5
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	14
1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
1.4 JUSTIFICACIÓN	15
2.0 OBJETIVOS	16
2.1 GENERAL	16
2.2 ESPECÍFICOS	16
3.0 MATERIAL Y MÉTODOS	16
3.1 TIPO DE ESTUDIO	16
3.1.1 POBLACIÓN OBJETIVO	16
3.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	16
3.3 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	16
3.4 UBICACIÓN DEL ESTUDIO	16
3.5 TAMAÑO DE LA MUESTRA	16
3.6 MATERIAL Y MÉTODO	17
3.7 ANALISIS ESTADISTICO	17
3.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS	18
3.9 TABLA DE VARIABLES	18

4.0 RESULTADOS	21
5.0 DISCUSIÓN	36
6.0 CONCLUSIÓN	40
7.0 ANEXOS CUADROS, TABLAS, GRAFICOS	42
8.0 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	50
9.0 BIBLIOGRAFÍA	51

MARCO TEÓRICO

ANTECEDENTES

Prematurez

La prematurez es definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como: el nacimiento del feto que ocurre antes de las 37 semanas de gestación o antes de los 259 días de gestación, desde el primer día del último periodo menstrual.¹

La prematurez es la principal causa de mortalidad neonatal y se asocia hasta con un 75% de morbilidad a largo plazo incluyendo retraso global del desarrollo, parálisis cerebral, retinopatía y problemas de audición, entre otros,² lo que resulta en enormes costos para el sistema de salud, de modo que debe ser visto como un problema de salud pública muy importante.

A pesar de los avances médicos, el número de partos prematuros se ha incrementado en las últimas tres décadas en los países desarrollados con tasas que van de 5 al 7%.³ La prematurez constituye el problema neonatal aislado más importante, ya que se considera que cuanto más inmaduro sea el feto, mayores serán los peligros durante el trabajo de parto, parto y la vida extrauterina temprana.⁴

La prematurez se clasifica en base a las semanas de gestación del paciente:⁵

a) Extremadamente prematuro: <28 SDG.

b) Muy prematuros 28 a 32 SDG

c) Moderadamente prematuros de 32-36 SDG

Dentro de este grupo se ha clasificado también a un subgrupo los cuales son llamados prematuros tardíos: 34 a 36 SDG.

El pronóstico inmediato de la prematurez extrema se basa en la valoración de la edad gestacional, peso de nacimiento y su condición clínica al nacer. Existen varios estudios donde existen discrepancias en cuanto a cuál debe ser la edad gestacional mínima y peso al nacer mínimo para considerar viabilidad, siendo el de mayor aceptación, por describirse en un mayor número de referencias, el que lo considera viable después de las 23 a 24 SDG, y un peso mayor a 500 g.^{6,10}

Al momento de clasificar por edad gestacional a un recién nacido prematuro, también es importancia realizar una clasificación en base al peso al nacimiento del paciente, pudiéndose subdividir a la población de pretérminos: en peso elevado, peso adecuado y bajo peso para su edad gestacional, situación que condicionará la probabilidad de determinada morbilidad postnatal.⁷

La prevalencia de la prematurez a nivel mundial para el año 2005, se estimó en 9,6%, lo que significa que cerca de 12,9 millones de todos los nacimientos fueron prematuros. Aproximadamente 85% de esta carga se concentró en África y Asia, donde 10,9 millones de nacimientos fueron prematuros. Alrededor de 0,5 millones

se dieron en Europa y el mismo número en América del Norte, mientras que 0,9 millones se produjeron en América Latina y El Caribe.⁸

De todas las muertes neonatales en la primera semana de vida que no se relacionan con malformaciones congénitas, 28% están asociadas a prematuridad.⁸ En la mayoría de países de ingresos medios y altos del mundo, la prematuridad es la principal causa de muerte infantil. Un 75-80% de las muertes perinatales ocurren en <37 semanas de edad gestacional y aproximadamente 40% de estas muertes ocurren en <32 SDG, siendo la sepsis y otras enfermedades infecciosas las principales causas de muerte en el neonato prematuro.⁸

Las complicaciones secundarias al parto prematuro, son la causa directa más importante de mortalidad neonatal, siendo responsable de 35% del total de muertes a nivel mundial con 3.1 millones de muertes al año y la segunda causa de muerte más común en <5 años después de la neumonía.⁸

La oportunidad de sobrevivir en el primer mes de vida de cualquier recién nacido, está influenciado por un gran número de factores ambientales, sociales y genéticos durante el embarazo y previo al mismo, los cuales van a determinar el crecimiento fetal, riesgo de malformaciones, nacimientos prematuros, peso bajo al nacer o la oportunidad de utilización de servicios de cuidados intensivos obstétricos o neonatales.⁹

Los índices de mortalidad neonatal tienen una relación inversamente proporcional a la edad gestacional, sin embargo actualmente, las diferencias en las tasas de muerte por prematuridad en diferentes regiones o países, están dadas por el avance y disponibilidad de tecnología en unidades de cuidados intensivos neonatales de las diferentes zonas.⁹

Los avances médicos de las últimas décadas han permitido la supervivencia de neonatos cada vez con menor peso y edad gestacional por lo que esto ha motivado la búsqueda de pesos y edades gestacionales mínimas de viabilidad, sin embargo es importante tomar siempre en cuenta cuestiones éticas así como tener en cuenta la posibilidad de no alcanzar la supervivencia libre de secuelas.⁹

El nacimiento de un niño antes de término, está determinado por diferentes factores por lo que se dice que es de etiología multifactorial y las causas varían según la edad gestacional, pero en términos generales se pueden clasificar según su origen.

Podemos clasificarlas en:

1) Causas de origen materno:⁸

a) Patologías propias del embarazo que conduzcan a una interrupción antes de término (preeclampsia, isoimmunización, diabetes gestacional).

b) Patologías maternas independientes del embarazo como edad materna, diabetes, hipertensión, cardiopatías, fibromas uterinos, malformaciones müllerianas.

- c) Infecciosas como infecciones de vías urinarias, cervicovaginitis.
- d) Mal nutrición (anemia, deficiencia de oligoelementos o vitaminas, obesidad).
- e) Toxicomanías (tabaquismo, alcoholismo, drogas recreativas)
- f) Nivel socioeconómico bajo.

2) Causas de origen fetal:

Como malformación fetal, gestación múltiple, macrosomía fetal y retardo del crecimiento.

3) Causas propias del embarazo:

Como ruptura prematura de membranas, polihidramnios, desprendimiento prematuro de placenta, placenta previa, entre otras. 4,8

Los recién nacidos prematuros tienen más riesgo de complicaciones y/o secuelas a diferentes niveles; esta alta labilidad a las enfermedades se debe principalmente a la inmadurez orgánica y funcional de sus sistemas.

En base a las diferentes complicaciones que existen, éstas se pueden agrupar de acuerdo al sistema afectado, dentro de los cuales se encuentran: ¹¹

1. **Aparato Respiratorio.** La función pulmonar del recién nacido pretérmino está comprometida por diversos factores entre los que se encuentran la inmadurez neurológica central y debilidad de la musculatura respiratoria, asociada a un pulmón con escaso desarrollo alveolar, déficit de síntesis de surfactante y aumento del grosor de la membrana alveolocapilar. La patología respiratoria es la primera causa de morbimortalidad del pretérmino y viene representada por el síndrome de dificultad respiratoria por déficit de surfactante o enfermedad de membrana hialina, seguida de las apneas del pretérmino y la displasia broncopulmonar. ^{11, 12}
2. **Aparato Gastrointestinal.** Existe falta de maduración del reflejo de succión y de su coordinación con la deglución, así como puede presentarse motilidad del intestino disminuida, por lo que se presentan trastornos de tolerancia con escasa capacidad gástrica, reflujo gastroesofágico y evacuación lenta. ¹² El uso de alimentación trófica precoz, uso de nutrición parenteral, y la administración de leche materna fortificada, son los pilares básicos de la alimentación del pretérmino. A este nivel, podemos ver patologías graves como la enterocolitis necrotizante, tendencia a la hiperbilirrubinemia por conjugación inefectiva.¹¹ Se pueden presentar algunas manifestaciones hemorrágicas por déficit de Vitamina K, fibrinógeno y protrombina. Por inmadurez hepática puede existir presencia de hipoglicemias. ^{11, 12}
3. **Sistema Nervioso Central.** A este nivel, el recién nacido pretérmino presenta una inmadurez del sistema nervioso central de manera funcional y anatómica. Hay fragilidad de la estructura vascular a nivel de la matriz germinal y escasa migración neuronal, pobre mielinización de la sustancia blanca y crecimiento exponencial de la sustancia gris. Estas características hacen a este cerebro inmaduro, muy susceptible a la hipoxia y a los

cambios de la osmolaridad y tensionales, por lo que es posible que se presente un cuadro de hemorragia intraventricular (HIV) así como un infarto hemorrágico, así como puede presentarse también otra entidad en los prematuros llamada leucomalacia periventricular. Existe en ellos de igual manera, mayor riesgo de presentar kernicterus con cifras de bilirrubinas más bajas, debido a la permeabilidad aumentada de la barrera hematoencefálica. ^{11, 12}

4. **Cardiovasculares.** La persistencia del *ductus* arterioso es una patología prevalente en los pretérminos, debido por una parte a la insensibilidad al aumento de la oxigenación y por otra parte a la caída anticipada de la presión pulmonar que hace que el *shunt* izquierda derecha se establezca precozmente. ^{11, 12} La hipotensión arterial es más frecuente cuanto menor es el peso, la cual está relacionada con la incapacidad del sistema nervioso autónomo para mantener adecuado tono vascular o con otros factores como la hipovolemia, la sepsis y /o disfunción cardíaca. ¹²
5. **Otros:** Existen otras afecciones a otros niveles importantes de destacar debido a la presentación elevada en los neonatos prematuros, por lo que al evaluar un niño de estas características es importante de manera intencionada buscar en ellos la posible presentación de las mismas. A nivel oftalmológico, los recién nacidos pretérmino son una población de riesgo, por la presentación de retinopatía del prematuro, por el potencial daño de las áreas visuales centrales y por la prevalencia de alteraciones de la refracción. A nivel del sistema inmune la inmunidad inespecífica es ineficaz, reacción inflamatoria incompleta, riesgo de sepsis por infecciones entéricas respiratorias, etc. ¹¹

Existen dificultades en el aspecto nutricional de los prematuros, en primer punto por el hecho de que los prematuros pueden nacer con peso bajo, situación que no solo está influenciada por las condiciones del embarazo, sino también la situación nutricional previa de la madre y/o otras patologías que afectan el intercambio de nutrientes materno fetales (hipertensión, tabaquismo, alteraciones placentarias, etc.) ¹³

Los recién nacidos de peso bajo y de extremo bajo peso al nacer, tienen riesgo de presentar deficiencias nutricionales, pobre ganancia de peso, dificultad para la alimentación, por lo que en muchos casos necesitan de nutrición parenteral durante las primeras semanas de vida, de acuerdo al peso y edad gestacional. En estos casos, la lactancia materna exclusiva es incapaz de cubrir sus requerimientos por lo que deben utilizarse fórmulas especiales que la complementen. ⁹

Metabolismo intermediario

El metabolismo comprende a todas aquellas reacciones químicas que ocurren en un organismo vivo y que le permite crecer, desarrollarse, reproducirse, mantener su estructura y responder al ambiente. Dichas reacciones químicas forman una intrincada red de rutas y ciclos en los cuales el flujo de sus productos (metabolitos)

está determinado por muchos mecanismos reguladores. Tradicionalmente, el metabolismo se ha dividido en “catabolismo”, que implica la degradación de moléculas y “anabolismo”, que es el proceso relacionado con la síntesis de sustancias orgánicas complejas.

De acuerdo con la definición anterior, el metabolismo incluye a todos los procesos celulares, desde la replicación del DNA hasta la traducción de la función enzimática, y también incluye la química de las moléculas pequeñas. El término metabolismo intermediario se aplica a las actividades combinadas de todas las vías metabólicas que convierten precursores, metabolitos y productos de bajo peso molecular. ^{.14}

La metabolómica es la más reciente de las grandes “ómicas” y puede definirse como una disciplina dedicada al estudio cualitativo y cuantitativo de todos los compuestos de bajo peso molecular (típicamente <1,500 Da) presentes en un sistema biológico y sus redes de interacción.¹⁵ Es un enfoque reciente basado en el estudio sistemático y simultáneo de múltiples compuestos en un sistema biológico (célula, tejido, fluido biológico u organismo) cuyo objetivo es definir el fenotipo producto del genotipo y de su interacción con los estímulos ambientales (internos y externos).^{16,17}

Su principal fortaleza es que permite correlacionar las concentraciones de los metabolitos y sus redes, de manera que se puede apreciar el estado de rutas específicas del metabolismo en un momento dado como una “fotografía instantánea”, que analizada de manera integral con métodos estadísticos permiten definir el estado metabólico de un sujeto (metaboloma).^{18,19}

El abordaje metabolómico consiste en dos pasos secuenciales:

- 1) Análisis cualitativo o cuantitativo de los metabolitos mediante espectrometría de masas o resonancia magnética nuclear (RMN) y
- 2) Análisis estadístico multiparamétrico de los datos mediante el uso de herramientas computacionales específicas. Entre estas herramientas destacan el MetaboAnalyst 2.0 que es un software de libre acceso que permite la visualización de datos en dos dimensiones, la cual genera un mapa de color de los analitos por agrupamiento jerárquico. Este enfoque permite explorar las tendencias o patrones de distribución de los metabolitos de acuerdo a diferentes factores o momentos (figura 1).²⁰

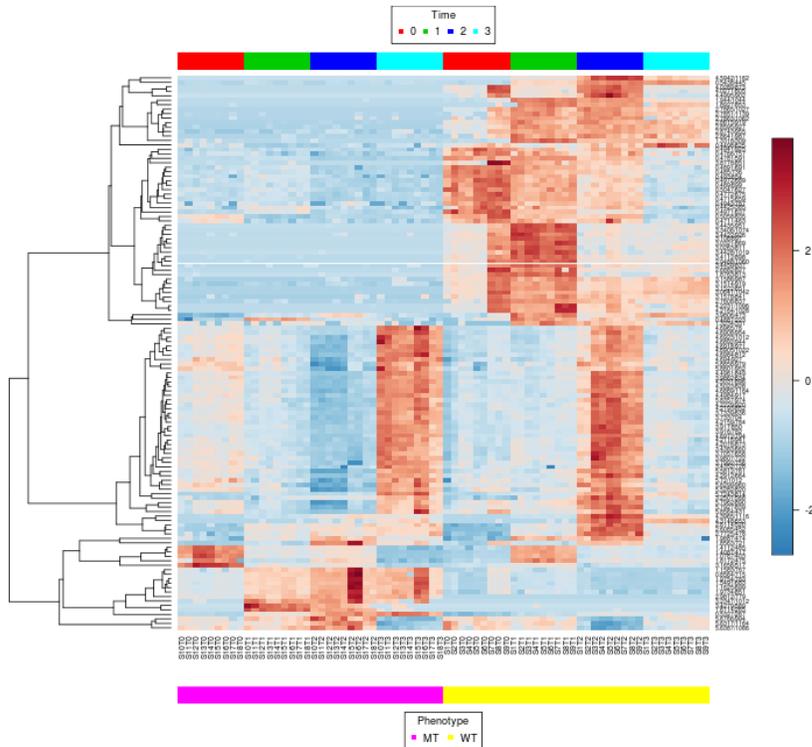


Figura 1. Ejemplo de análisis metabolómico por agrupamiento jerárquico.²⁰

La metabolómica tiene como objetivo detectar, cuantificar y elucidar la estructura de los metabolitos; en esta gran diversidad de estructuras químicas encontramos metabolitos endógenos y exógenos; los primeros entre los que se incluyen aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos nucleicos, ácidos grasos, azúcares, vitaminas, cofactores, pigmentos, antibióticos, etc.²¹

Los avances en espectrometría de masas (MS) han permitido el análisis de proteínas celulares y metabolitos (proteoma y metaboloma respectivamente). La MS permite la separación, identificación y cuantificación de moléculas, basada en su relación masa/carga (m/z), en diferentes matrices (líquidas, sólidas), después de su ionización. Los espectrómetros utilizan una propiedad que poseen todas las moléculas: la masa.²²

La técnica llamada espectrometría de masas en tándem, usualmente abreviada como MS/MS, posee un equipo que está constituido de seis componentes básicos: 1) sistema de introducción de muestra; 2) fuente de ionización; 3) primer analizador de masas 4) cámara o celda de colisión; 5) segundo analizador de masas 6) detector.²²

La aplicación más común de la MS/MS es el tamiz neonatal ampliado en el cual, a partir de una gota de sangre depositada en papel filtro, se obtiene simultáneamente el perfil de 11 aminoácidos y 33 acilcarnitinas en aproximadamente dos minutos.²²

Una de las aplicaciones novedosas de la MS/MS en pediatría, es el estudio de biomarcadores de distintos procesos patológicos. La detección temprana y eficiente de huellas de biomarcadores anormales o de la elevación de aquellos que deben mantenerse en determinados niveles, permitirá hacer diagnósticos más tempranos, predecir el comportamiento y evolución de algunas enfermedades o ambas. Los estudios metabolómicos mediante MS/MS, que sólo requieren unas gotas de sangre, serán especialmente valiosos en el campo de la neonatología y la perinatología.²²

La implementación en la cuantificación de aminoácidos y la comparación con valores de referencia de aminoácidos en plasma, permitirá aumentar el conocimiento sobre la incidencia de patologías, junto con otros factores, su diagnóstico preciso y oportuno, así como la implementación de un adecuado aporte y seguimiento nutricional.

ARGININA

La arginina juega un papel clave en muchos procesos metabólicos de la salud y enfermedad, tales como la desintoxicación del amoníaco, síntesis de poliaminas y creatinina, modulación de la función inmune, liberación de hormonas anabólicas, entre otros.²³

La arginina es considerada un aminoácido semi-esencial, porque la síntesis de arginina endógena puede no ser suficiente para satisfacer las necesidades metabólicas, especialmente durante el crecimiento de bebés y niños en condiciones altamente catabólicas.²⁵

La arginina es un aminoácido que puede obtenerse de la ingesta dietética (aproximadamente 4 a 6 gr de arginina al día), así como de la síntesis *de novo* a partir de la citrulina, lo cual representa 10 a 15% del total de la producción de arginina, y a través de la degradación de proteínas, lo que representa el 80% de su producción.^{24, 25} La arginina tiene una pobre absorción a nivel intestinal; con el yeyuno como el sitio principal de absorción. La arginina presenta una importante captación hepática. La arginina sintetizada a partir de citrulina representa el 60% de la síntesis de arginina *de novo*, sin embargo, esto sólo representa del 5 al 15% del total de la arginina circulante. Esto indica que la mayor parte de la arginina plasmática se deriva de la proteólisis y la ingesta de alimentos.²⁵

La arginina puede producirse a partir de la conversión de citrulina por la acción combinada de las enzimas citosólicas: argininosuccinato sintetasa (ASS) y argininosuccinato liasa (ASL). La citrulina, el factor limitante en la síntesis de arginina *de novo*, muestra un pobre aporte en la ingesta dietética (aproximadamente el 13% del total de arginina). Sin embargo, el principal precursor de la citrulina es la glutamina, que se convierte en los enterocitos del intestino delgado proximal, y representa el 60-80% de la citrulina total.²⁴ El intestino delgado libera la citrulina producida a la circulación, de la cual aproximadamente el 80% es captada por las células tubulares proximales del riñón para la síntesis de arginina *de novo*, por lo que esto también se conoce como el

eje intestinal-renal. El equilibrio entre la síntesis intestinal y la degradación renal determina la concentración de citrulina en plasma.²⁴

Se conoce actualmente que los niños con enfermedades críticas pueden estar en riesgo de desarrollar deficiencia de arginina. Se ha documentado ampliamente que los neonatos de muy bajo peso al nacer no tienen la capacidad de cubrir sus necesidades de cisteína, taurina, histidina y arginina. Por lo tanto, estos aminoácidos son considerados totalmente esenciales.^{23, 26}

La arginina tiene un papel importante en la síntesis de proteínas, en el metabolismo del ciclo de la urea, en la síntesis de compuestos de alta energía, creatina y creatina fosfato, síntesis de poliaminas y la producción de óxido nítrico.²⁷ El óxido nítrico es una molécula presente en roles importantes del organismo como mantenimiento del tono vascular, la coagulación, el sistema inmune, el tracto gastrointestinal y ha sido implicado como un factor en estados patológicos diversos como sepsis, enterocolitis necrotizante, cirrosis, hipertensión, entre otros.

Existen patologías en los prematuros, las cuales se ha visto que son afectadas por la presencia de niveles bajos de arginina en sangre, y que pueden inclusive mejorar con la suplementación de la misma. Un problema nutricional significativo en neonatos pretérmino es precisamente la hipoargininemia, que puede resultar en hiperamonemia, así como disfunción cardiovascular, pulmonar, neurológica e intestinal. La deficiencia de arginina puede contribuir al alto grado de morbilidad y mortalidad que se ve en estos pacientes.^{26,27}

La enterocolitis necrotizante (ECN) es una complicación frecuente en los recién nacidos prematuros, que puede ser originada por la inmadurez del sistema gastrointestinal del paciente, por isquemia del tubo digestivo y lesión de la mucosa como resultado de una infección o alimentación con soluciones hiperosmolares. Para proteger el tubo digestivo, el cuerpo produce una sustancia natural, el óxido nítrico, a partir del aminoácido arginina. Las concentraciones de arginina plasmática reportadas son bajas en neonatos de muy bajo peso al nacer y en recién nacidos prematuros que presentan ECN.^{28,29}

La incorporación de arginina a la alimentación láctea del paciente, podría entonces prevenir la ECN. Se han realizado estudios controlados que evalúan la eficacia y la seguridad de la administración de suplementos de arginina.³⁰ En un estudio realizado en 152 recién nacidos con menos de 32 semanas de gestación, se vio que la adición de arginina extra al alimento de los recién nacidos prematuros, comenzando a los dos a cinco días de vida, y hasta los 28 días de vida, redujo el riesgo de presentar ECN. No se observaron efectos secundarios significativos directamente atribuibles al exceso de arginina.²⁹ Los posibles efectos de la suplementación con arginina son la disminución de la presión arterial y la modificación en el control de la glucemia³⁰. Sin embargo actualmente, los datos son insuficientes para apoyar una recomendación para la práctica, se necesita un estudio controlado aleatorio multicéntrico de la administración de suplementos de arginina en recién nacidos prematuros centrado en la prevención la ECN para determinar si el tratamiento de la 'insuficiencia de arginina' mediante el aumento

de los niveles de arginina en las soluciones de la nutrición parenteral, tendrá un efecto protector en los recién nacidos en riesgo de ECN.^{28, 29,30}

Se ha visto de igual manera que la depleción de arginina incrementa la susceptibilidad a infecciones severas en prematuros.^{24, 25} Conocemos que estos pacientes tienen, por su estado inmunológico inmaduro y otras características ya descritas previamente, un mayor riesgo de adquisición de infecciones importantes. La arginina es depletada en estados catabólicos agudos como lo es la sepsis. La deficiencia de arginina se ha visto como resultado de un aporte disminuido, así como una inadecuada síntesis *de novo* a partir de la citrulina, en combinación con un catabolismo de arginina potenciado por el aumento de la arginasa y la sintetasa de óxido nítrico, como respuesta inflamatoria del sistema inmune.²⁵

La sepsis y las afecciones inflamatorias se caracterizan por una disfunción orgánica como resultado de una mala distribución del flujo sanguíneo y una baja resistencia vascular periférica, especialmente a nivel microcirculatorio, que a su vez resulta de la inflamación y endotoxemia.^{24,25} Además, se considera que la sepsis es un estado deficiente en arginina y la arginina se convierte en un aminoácido semi-esencial durante condiciones de estrés como la sepsis. Aunque en este estado hay destrucción proteica, por lo que se obtiene más cantidad de arginina, también se acompaña de un mayor consumo de arginina, un deterioro de la síntesis de arginina *de novo* y una disminución del suministro de arginina.²⁴

Hay estudios que hablan sobre el papel de la hipoargininemia en recién nacidos pretérmino, la cual puede estar asociada con la severidad del síndrome de dificultad respiratoria (SDR, la afección pulmonar más frecuente en prematuros) y el decremento de la oxigenación sistémica, debido a que se observaron incrementos en el índice de oxigenación, que reflejan una mayor severidad del SDR, los cuales se asocian con una disminución en la concentración de arginina en plasma³¹. Este hallazgo puede reflejar el consumo de arginina por la vía de la sintetasa de óxido nítrico en los pulmones de los RN prematuros con SDR, o puede explicarse por el aumento del catabolismo de la arginina.³¹

La displasia broncopulmonar (DBP) es una causa importante de morbilidad y mortalidad en los recién nacidos prematuros, especialmente en los de muy bajo peso al nacer.³² Un importante regulador de la perfusión vascular es el óxido nítrico endotelial (NO). Una deficiencia relativa de arginina o la inmadurez de la actividad de NO en los RN prematuros puede conducir a niveles deficientes de NO en los tejidos, vasoconstricción y lesión por reperfusión de isquemia y pueden predisponer al desarrollo de displasia broncopulmonar y favorecer su severidad. En un estudio con 32 RN prematuros con peso muy bajo al nacer, se realizó suplementación de arginina donde notaron que la presentación de DBP fue menor en el grupo de suplementación, que en el grupo control, aunque se concluye que no fue estadísticamente significativo.³² Sin embargo es probable que se requieran más estudios para su comprobación.

La arginina también juega un rol importante a través del óxido nítrico en la función renal y puede contribuir a favorecer la lesión renal y fibrosis.²⁶ El óxido nítrico regula los cambios hemodinámicos a nivel glomerular y medular, la liberación de renina, la retroalimentación tubuloglomerular. Un exceso puede favorecer la producción de radicales hidroxilo, y contribuir a la patogenia de varias afecciones renales como la glomerulonefritis inmunomediadas y la insuficiencia renal post-isquémica. Por otro lado, la disminución de la síntesis de óxido nítrico puede contribuir a la patogénesis de la hipertensión dependiente del volumen y de lesiones a nivel glomerular resultantes de aumento de presión intraglomerular.²⁶

Se ha observado también una relación entre la hiperamonemia y las alteraciones de la arginina. Se encontró que de manera frecuente, en un 50% aproximadamente, de los recién nacidos prematuros presentan niveles elevados de amonio en plasma durante los primeros 2 meses de vida, y generalmente no se acompañan de síntomas clínicos como vómitos o letargo. En un estudio realizado a 59 recién nacidos prematuros, se encontró que 33 tenían niveles de amonio elevados, se les tomaron niveles de arginina y ornitina en plasma, donde se observó que fueron significativamente más bajos en el grupo con hiperamonemia que en los que no la presentaban.³³ Se les administró a estos pacientes, suplementos de arginina (1 a 2 mmol / kg / día) por 1 a 2 semanas seguidos por períodos de control. En cada uno de ellos, los niveles plasmáticos de amonio disminuyeron significativamente a los 2 días del inicio de la administración de suplementos, y aumentaron una vez que se suspendieron los mismos.³³

La arginina exógena es la fuente predominante de óxido nítrico, el cual ofrece protección contra lesiones hepáticas.²⁶ De ésta manera, recientemente se demostró en un estudio que la lesión por isquemia / reperfusión era atenuada por una infusión de arginina de manera experimental en ratas. Se han descrito también un rol importante de la arginina a través del óxido nítrico en la regulación de la glicemia.²⁶ Aún son necesarios la realización de más número de estudios para poder determinar el efecto protector real de la arginina a nivel hepático, y a nivel de otros sistemas.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los niños que nacen antes de las 37 semanas de gestación, tienen una mayor morbimortalidad que la de los niños que nacen a tiempo. Los niños prematuros tienen un comportamiento bioquímico y fisiológico distinto al de los niños de término, que puede explicarse por la inmadurez hepática, renal y por el estrés relacionado con el nacimiento; por ejemplo, se sabe que estos niños tienen valores de aminoácidos distintos.

A pesar de que la prematurez es uno de los factores que contribuyen mayoritariamente a la morbimortalidad neonatal, sus características bioquímicas son poco conocidas. La misma labilidad inherente al recién nacido prematuro (su peso, talla, etc.), obstaculiza la realización de estudios metabólicos y bioquímicos tradicionales que implican la toma de muestras considerablemente grandes de sangre. La metabolómica constituye una nueva alternativa para el estudio bioquímico integral del recién nacido, puesto que con muestras no invasivas

(orina) y con micromuestras de sangre (2-4 gotas de sangre en papel filtro), se pueden “rastrear” y analizar los principales componentes del metabolismo. Esto puede brindar un panorama general de cómo se está llevando a cabo el metabolismo intermediario en este grupo de pacientes. En este caso decidimos analizar las concentraciones de arginina, debido a que se ha reportado en distintos estudios, que cuando ésta no se encuentra en niveles normales, puede predisponer a desarrollo de complicaciones propias del prematuro y severidad de las mismas, entre ellas enterocolitis necrotizante, sepsis, displasia broncopulmonar, síndrome de dificultad respiratoria, hiperbilirrubinemia, alteraciones cardiovasculares, regulación de termogénesis y alteraciones metabólicas como trastornos glucémicos, etc. No se han descrito hasta la fecha de manera concisa concentraciones de arginina asociadas a los distintos fenotipos clínicos que presentan los recién nacidos prematuros.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

- 1) ¿Existen diferencias en el perfil bioquímico de las concentraciones de arginina en sangre y orina de los recién nacidos prematuros al momento de su ingreso, comparado con el perfil obtenido al momento del egreso?
- 2) ¿Existen concentraciones de arginina en sangre y en orina diferentes que caracterizan algunos fenotipos de los recién nacidos prematuros?

JUSTIFICACIÓN

La prematurez es la principal causa de morbilidad y mortalidad neonatal y es responsable de la mayor parte de las muertes de recién nacidos sin malformaciones y de la mitad de las discapacidades neurológicas congénitas. En el Instituto Nacional de Pediatría se registraron en el año 2012 un total de 372 ingresos al Servicio de Neonatología y cerca de la tercera parte de ellos, corresponden a recién nacidos prematuros.

A pesar de los progresos en la investigación pediátrica, el conocimiento sobre la bioquímica del prematuro aún es pobre. Se sabe actualmente que concentraciones bajas de arginina, pueden predisponer la aparición de complicaciones o la persistencia de las mismas en recién nacidos, y de manera más específica en los recién nacidos prematuros. En la actualidad, no se sabe bien si las concentraciones de arginina en sangre de los recién nacidos prematuros, se relacionan con el desarrollo de complicaciones graves (fenotipos) tales como la enterocolitis necrotizante, sepsis, síndrome de dificultad respiratoria, hiperbilirrubinemia, displasia broncopulmonar, alteraciones glucémicas.

Los resultados esperados aportarán información sobre la bioquímica del prematuro en cuanto a las concentraciones sanguíneas de arginina, para saber si existen diferencias (excesos o deficiencias), para que en caso de demostrarse su existencia, permitan personalizar y mejorar su tratamiento médico, especialmente a nivel nutricional, lo que impactará en forma positiva en la atención de estos pacientes en México.

OBJETIVOS

Objetivo general

Describir el perfil bioquímico de las concentraciones sanguíneas y urinarias de arginina del neonato prematuro al momento del ingreso y del egreso, en el servicio de neonatología de un hospital de tercer nivel de atención.

Objetivos secundarios.

1. Identificar si existen diferencias en el perfil bioquímico de las concentraciones de arginina en sangre y orina de los recién nacidos prematuros al momento de su ingreso y al momento del egreso.
2. Identificar si existen diferencias en concentraciones de arginina en sangre y en orina asociados con algunos fenotipos específicos de los recién nacidos prematuros.

MATERIAL Y MÉTODOS

-TIPO DE ESTUDIO

Estudio observacional, exploratorio, retrospectivo y descriptivo.

-POBLACIÓN

Población objetivo. Niños recién nacidos cuya edad gestacional sea menor de 37 semanas.

Población elegible. Niños que ingresen al servicio de Neonatología del Instituto Nacional de Pediatría de octubre del 2013 a octubre del 2016.

-CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Cualquier género
- Que los padres acepten participar en el estudio y firmen la Carta del Consentimiento Informado.

-CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- Pacientes que ingresen con antecedente de transfusión sanguínea.

-UBICACIÓN DEL ESTUDIO

Servicio de Neonatología y Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz del Instituto Nacional de Pediatría.

-TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Se trata de un estudio exploratorio. Proyectos con fines similares incluyen 50-100 casos, por lo que la propuesta de muestra es de 100 individuos, sin embargo para este estudio solo pudieron reunirse 32 pacientes.

-MATERIAL Y MÉTODO

En el presente trabajo se realizará la determinación de arginina en sangre mediante espectrometría de masas en tándem (VER ANEXO 3) , así como la determinación de arginina en orina mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. (VER ANEXO 4)

Previo invitación a los padres o tutores del niño prematuro, se firmará una carta de consentimiento informado aceptando la participación en el protocolo. (VER ANEXO 2) Una vez firmada, se procederá a la toma de muestras del recién nacido: 5 gotas de sangre capilar recolectadas en papel filtro y 5 ml de orina recolectada en bolsa plástica y congelada. Las muestras se tomarán en los siguientes momentos:

- 1) Muestra inicial, al momento del ingreso del paciente.
- 3) Muestra final, al egreso del paciente (cuando ocurra).

Los datos clínicos serán tomados del expediente y además se realizará una entrevista a los padres o tutores del paciente, en la que se aplicará un cuestionario estandarizado (Anexo 1).

Análisis de laboratorio. Se recolectarán del expediente los resultados de los siguientes exámenes: hemoglobina (g/dL), leucocitos, plaquetas, proteína C reactiva, glucosa (mg/dL), creatinina, albúmina, bilirrubinas, transaminasas, amonio.

Análisis de aminoácidos (arginina). El análisis del aminoácido arginina se realiza mediante la técnica de espectrometría de masas en tándem, utilizando el equipo marca 4 Micro API (MicroMass), de acuerdo con el protocolo del fabricante NeoGram AAAC spectrometry kitt (PerkinElmers). Brevemente consiste en perforar un disco de 3mm de la muestra de sangre depositada en papel filtro, mismo que se coloca en el pozo de una placa de 96 celdas; se le adicionan 190 uL de la solución de extracción que contiene la mezcla de los isótopos estables como estándares internos. La placa se cubre con una hoja de aluminio, se agita a 650 rpm y se incuba 30 minutos a 30° C. Finalmente la placa se coloca en el automuestreador para ser introducida al espectrómetro de masas. Los reactivos, consumibles y la metodología en detalle se muestra en el Anexo 3.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información de la investigación se capturará en el paquete de Excel de Microsoft, dicha información será exportada al paquete estadístico SPSS V 21. Con este programa se realizará la estadística descriptiva de las variables estudiadas. Para el caso específico de las variables nominales y ordinales se obtendrá una tabla de la distribución de frecuencia de dichos valores estudiados y una gráfica de pastel o de barras. En el caso de las variables de intervalo o de escala se obtendrá la estadística descriptiva de las variables tales como promedio aritmético, mediana y moda y desviación estándar, distribución cuartilar, etc. Se hará un cruce de variables a través del módulo de SPSS de tablas de contingencia. Las diferencias en las concentraciones de arginina, serán evaluadas

de manera individual con respecto a la edad gestacional, género, edad cronológica, peso al nacimiento, tipo de nutrición y evolución clínica.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Riesgos y beneficios del estudio

Los riesgos de los participantes son: molestias debido a la punción para la toma de una muestra de sangre, pudiendo presentar un hematoma, lo que podría provocar dolor leve. Este estudio se ajusta a las normas éticas institucionales, a la Ley General de Salud en materia de investigación y a la declaración de Helsinki.

Se respetará la privacidad y confidencialidad de los datos de los pacientes, se identificarán por clave y su identidad no será divulgada. Se permitirá a los padres de los pacientes cambiar de opinión y abandonar el estudio si así lo desean, sin que esto afecte la atención médica que se le brinde al niño. Como beneficio adicional, con la primera muestra de sangre del recién nacido, se le practicará el tamiz neonatal ampliado para descartar aminoacidopatías, acidemias orgánicas e hipotiroidismo congénito y se entregarán por escrito los resultados

VARIABLES A ANALIZAR

Nombre de la Variable	Tipo de Variable	Medición de la Variable
Edad	Cuantitativa continua	Años
Sexo	Nominal	Femenino Masculino
Edad gestacional	Cuantitativa continua	Número de semanas de gestación
Peso al nacimiento	Cuantitativa continua	Kilogramos

Peso para edad gestacional	Nominal	Adecuado Bajo
Talla	Cuantitativa continua	Centímetros (cm)
Peso a la toma	Cuantitativa continua	Kilogramos (kg)
Talla a la toma	Cuantitativa continua	Centímetros (cm)
Uso de Ventilación Mecánica	Nominal	Si No
Paro cardiorrespiratorio	Nominal	Si No
Enterocolitis necrotizante	Nominal	Si No
Sepsis	Nominal	Si No
Hiperbilirrubinemia	Nominal	Si No
SDR	Nominal	Si No

HIV	Nominal	Si No
Hipoglicemia neonatal	Nominal	Si No
DBP	Nominal	Si No
Fórmula	Nominal	Humana Fórmula de inicio 13% Fórmula para prematuro 16% Formula extensamente hidrolizada 13%
Tipo de nutrición	Nominal	Ayuno Parenteral Enteral Mixta
NPT	Nominal	Si No
Anemia	Nominal	Si No
Leucocitosis	Nominal	Si No
Leucopenia	Nominal	Si No
Plaquetopenia	Nominal	Si No
PCR elevada	Nominal	Si No

Hipoalbuminemia	Nominal	Si No
Hipoglicemia	Nominal	Si No
Transaminasemia	Nominal	Si No
Hiperlactatemia	Nominal	Si No
Creatinina Elevada	Nominal	Si No
Hiperamonemia	Nominal	Si No
Valor de arginina sérica	Cuantitativa continua	Valor numérico
Valor de arginina en orina	Cuantitativa continua	Valor numérico

RESULTADOS

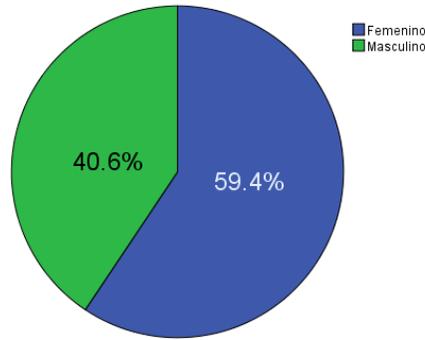
Se integraron al protocolo un total de 36 pacientes de los cuales no se incluyeron en la base de datos 4 pacientes (por no tener completas las muestras del ingreso y egreso necesarias para el análisis de las concentraciones iniciales y finales de arginina en sangre y/o orina), quedando de esta manera 32 pacientes.

Descripción de las características de la población:

Sexo

Podemos observar en la Gráfica.1 y en la Tabla. 1 que 19 de los pacientes estudiados son de sexo femenino (59.4%) y 13 pacientes de sexo masculino (40.6%) con una relación de 1: 1.4.

Porcentaje en relación al sexo



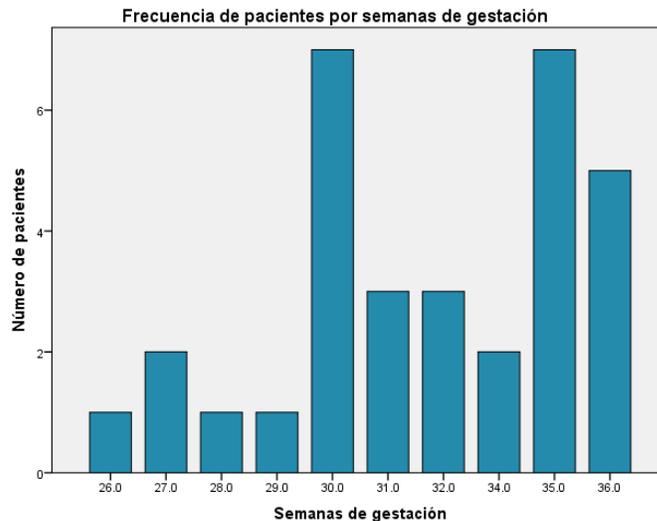
Gráfica.1 Porcentaje en relación al sexo de pacientes

	Frecuencia	Porcentaje (%)	Porcentaje acumulado (%)
Femenino	19	59.4	59.4
Masculino	13	40.6	100
Total	32	100	

Tabla. 1 Frecuencia y porcentaje de pacientes por sexo

Edad gestacional

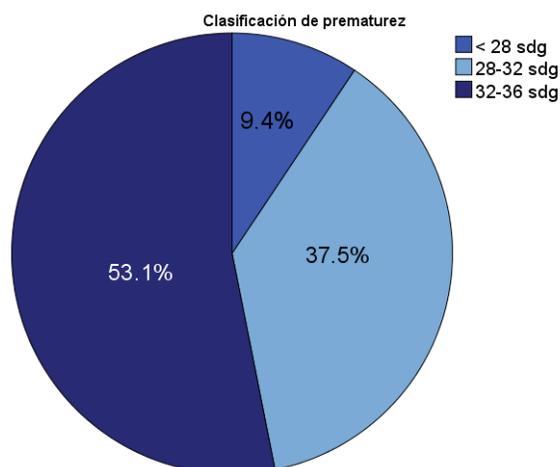
Se reportan edades gestacionales por semanas de gestación (SDG) teniendo como pacientes con edad gestacional mínima de: 26 SDG hasta pacientes con edad gestacional máxima de 36 SDG, como media 32 SDG y como moda niños con 30 SDG con un total de 7 pacientes (21.9%) y 35 SDG con 7 pacientes (21.9%), como se puede observar en la Gráfica.2.



Gráfica.2 Frecuencia de pacientes por semanas de gestación (SDG)

Clasificación de prematurez

En cuanto a la clasificación de prematurez, contamos con prematuros extremos (<28 SDG) en un total de 3 pacientes (9.4%), paciente recién nacidos muy prematuros (28 a 32 SDG) en un total de 12 pacientes (37.5%), y un total de 17 pacientes (53.1%) en los moderadamente prematuros (32 y 36 SDG, como se puede observar en la Gráfica.3.



Gráfica.3 Porcentaje de pacientes según clasificación de prematurez

Peso al nacimiento

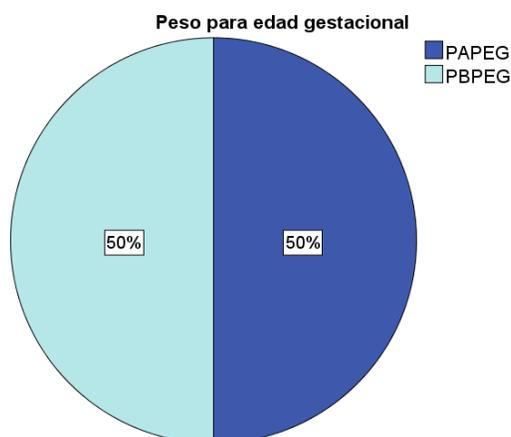
En cuanto a los pesos al nacimiento podemos observar la Tabla.2, donde se describen los pesos en los grupo de prematuros extremos (<28 SDG) como mínimo de 800 g, siendo ésta una paciente femenina, y 971 g como máximo, en el grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) encontramos en el grupo femenino peso mínimo de 740 g y peso máximo de 1460 g, y en el grupo masculino peso mínimo de 1060 g y máximo de 2250 g; para el grupo de prematuros moderados (32-36 SDG) contamos con pesos al nacimiento mínimo de 1160 g en el grupo femenino y máximo de 3020 g, y en el grupo masculino de 1510 g y máximo de 2945 g.

				Peso al nacimiento					
				Recuento	Media (g)	Mínimo (g)	Máximo (g)	Desviación típica	Error típico de la media
Clasificación de prematurez	< 28 sdg	Sexo del paciente	Femenino	1	800	800	800	-	-
			Masculino	2	951	930	971	29	21
	28-32 sdg	Sexo del paciente	Femenino	7	1123	740	1460	211	80
			Masculino	5	1452	1060	2250	467	209
	32-36 sdg	Sexo del paciente	Femenino	11	1913	1160	3020	615	185
			Masculino	6	2268	1510	2945	503	205

Tabla 2. Pesos al nacimiento de acuerdo a clasificación de prematurez y de acuerdo a sexo.

Peso para edad gestacional

Sobre estos pacientes, en la Gráfica.4 se observa que 16 pacientes presentaban peso bajo para edad gestacional (PBPEG) (50%) siendo el peso adecuado para edad gestacional (PAPEG) presente en el mismo porcentaje de casos.



Gráfica.4 Clasificación por peso para edad gestacional

Relación del peso para edad gestacional en base a clasificación de prematuridad

Podemos observar que dentro del grupo de pacientes prematuros extremos (<28 SDG) se encuentra un paciente (3.1%) con peso bajo para edad gestacional (PBPEG); dentro del grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG), se encontraron 6 pacientes (18.75%) con peso bajo para edad gestacional y en el mismo número con peso adecuado para edad gestacional ; finalmente en el grupo de pacientes moderadamente prematuros (32 a 36 SDG) se encuentran 9 pacientes (28.1%) con peso bajo para edad gestacional, (siendo el mayor número de pacientes con peso bajo dentro de los tres grupos de prematuridad).

Peso para edad gestacional en relación a clasificación de prematuridad					
			Peso para edad gestacional		Total
			PAPEG	PBPEG	
Clasificación de prematuridad	< 28 sdg	Número	2	1	3
		%	6.25%	3.1%	9.3%
	28-32 sdg	Número	6	6	12
		%	18.75%	18.75%	37.5%
	32-36 sdg	Número	8	9	17
		%	25%	28.1%	53.1%
Total		Número	16	16	32
		%	50.0%	50.0%	100.0%

Tabla.3 Peso para edad gestacional en relación a clasificación de prematuridad

Talla al nacimiento

En cuanto a las tallas al nacimiento podemos describir, como se observa en la Tabla.4 que se encontraron tallas en los grupo de prematuros extremos (<28 SDG) como mínimo de 34 cm siendo una paciente femenina, y en varones talla mínima de 36 cm y máxima de 38 cm; en el grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) encontramos en el grupo femenino talla mínima de 33 cm en y como máxima 42 cm, en el grupo masculino encontramos talla mínima de 35 cm y máxima de 45 cm; para el grupo de prematuros moderados (32-36 SDG) contamos con talla al nacimiento mínima de 38 cm en el grupo femenino y máximo de 48 cm, y en el grupo masculino mínima de 40 cm y máxima de 47 cm .

				Talla al nacimiento					
				Recuento	Media (cm)	Mínimo (cm)	Máximo (cm)	Desviación típica	Error típico de la media
Clasificación de prematuridad	< 28 sdg	Sexo del paciente	Femenino	1	34	34	34		
			Masculino	2	37	36	38	1	1
	28-32 sdg	Sexo del paciente	Femenino	7	38	33	42	3	1
			Masculino	5	40	35	45	4	2
	32-36 sdg	Sexo del paciente	Femenino	11	43	38	48	4	1
			Masculino	6	44	40	47	3	1

Tabla.4 Talla al nacimiento de acuerdo a clasificación de prematuridad

Edad al ingreso

En cuanto a las edades al ingreso, tenemos pacientes desde los 0 días hasta los 32 días de vida, siendo 4 los pacientes que ingresaron en su día 0-1 de vida (12.5%), reuniendo un total de 8 pacientes los que ingresan entre el día 2 y 3 de vida (25%) , así como 9 pacientes entre su 4to y 7mo día de vida (28.3%) siendo este grupo de edad el que cuenta con el mayor número de pacientes; entre el 7mo a 14vo día se observa un total de 6 pacientes (18.7%), de 15 a 28 días de vida un total de 2 pacientes (6.3%), y un total de 3 pacientes (9.4%) mayores a 28 días.

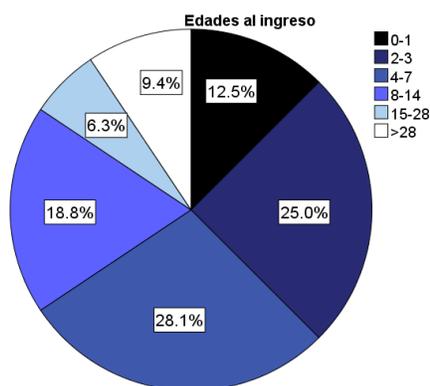


Gráfico.5 Porcentaje de pacientes por días de vida al ingreso

Edades al ingreso (días)				
		Frecuencia	Porcentaje (%)	Porcentaje acumulado (%)
Días de vida al ingreso	0-1	4	12.5	12.5
	2-3	8	25.0	37.5
	4-7	9	28.1	65.6
	8-14	6	18.8	84.4
	15-28	2	6.3	90.6
	>28	3	9.4	100.0
	Total	32	100.0	

Tabla.5 Frecuencia y % de pacientes por días de vida al ingreso

Nutrición parenteral

En cuanto a esta variable, podemos observar que 10 pacientes contaban con nutrición parenteral (NPT) al momento de la toma de ingreso hospitalario, siendo estos el 31.3% de la población, con un total de 22 pacientes (68%) que no contaban con ella, como se puede observar en la Gráfica.6. En la toma final, ningún paciente contaba con nutrición parenteral.

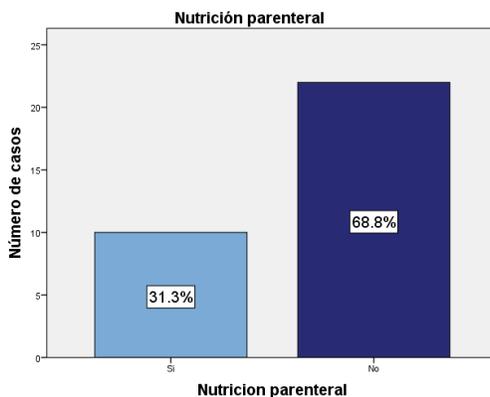


Gráfico.6 Pacientes con nutrición parenteral en toma de muestra inicial

De acuerdo a la clasificación de prematurez, la cual se representa en la Tabla.6, observamos que el mayor número de pacientes con NPT, eran los pacientes prematuros moderados (32 a 36 SDG) en un total de 5 casos, 50% del grupo de pacientes con NPT y 15.6% del total de pacientes del estudio.

		Nutrición parenteral			
		Si		No	
		Número	%	Número	%
Clasificación de prematurez	< 28 sdg	2	6.3%	1	3.1%
	28-32 sdg	3	9.4%	9	28.1%
	32-36 sdg	5	15.6%	12	37.5%
	Total	10	31.3%	22	68.8%

Tabla.6 Pacientes con nutrición parenteral en relación a la clasificación de

Tipo de nutrición

Observamos que al ingreso se encontraba en ayuno 12 pacientes (37.5%), de los cuales 7 son del grupo de prematuros moderados y no se cuenta con ningún paciente del grupo de prematuro extremo en ayuno; se encontraban con nutrición enteral 10 pacientes (31.2%), de los cuales la mayoría, 5 pacientes son del grupo de prematuros moderados; un total de 6 pacientes (18.8%) con nutrición

parenteral y 4 pacientes (12.5%) con nutrición mixta (enteral y parenteral). Como se representa de manera clara en la Gráfica.7. En contraste podemos mencionar que en las muestras al egreso de los pacientes, un total de 1 paciente en ayuno (3.1%), un total de 28 pacientes (87.5%) con nutrición enteral, y un total de 3 pacientes (9.4%) aun con nutrición mixta.

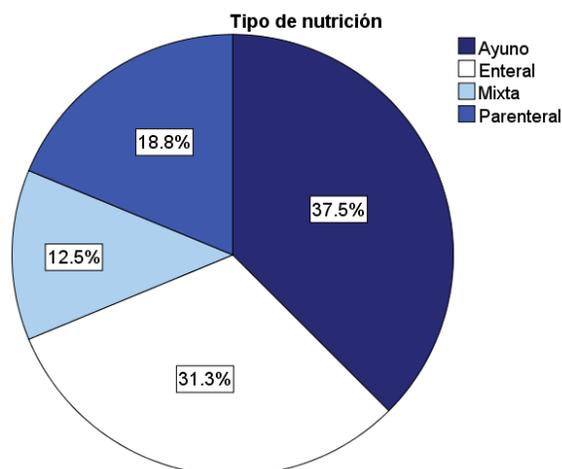


Gráfico.7 Tipo de nutrición al ingreso del paciente

		Tipo de nutrición			
		Ayuno	Enteral	Mixta	Parenteral
Clasificación de prematuridad	< 28 sdg	0	1	1	1
	28-32 sdg	5	4	1	2
	32-36 sdg	7	5	2	3
	Total	12	10	4	6

Tabla.7 Número de pacientes según tipo de nutrición al ingreso de acuerdo a los grupos de prematuridad

Tipo de nutrición enteral

En cuanto al tipo de nutrición enteral administrada a los pacientes, como representado en la Gráfica.8, se puede observar que en la toma de muestra del ingreso, la mayoría de los pacientes se encontraba sin alimentación enteral en un total de 19 pacientes (59.4%), con leche humana en un total de 6 pacientes (18.8%), con fórmula de inicio al 13% en un total de 3 pacientes (9.4%), y fórmula para prematuro al 16% en 4 pacientes (12.5%). En contraste con el ingreso, en el momento de la toma del egreso podemos ver que disminuyó de manera considerable el total de pacientes sin alimentación enteral, la cual se encontró en un total de 2 pacientes (6.3%), con leche humana 11 pacientes (34.4%), con

fórmula de inicio al 13% en un total de 7 pacientes (21.9%), con fórmula para prematuro al 16% (31.1%), y se agrega el uso de formula extensamente hidrolizada al 13% en un total de 2 pacientes (6.3%)

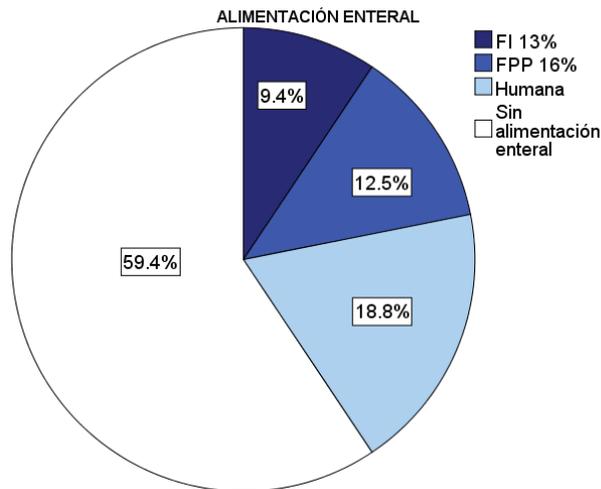
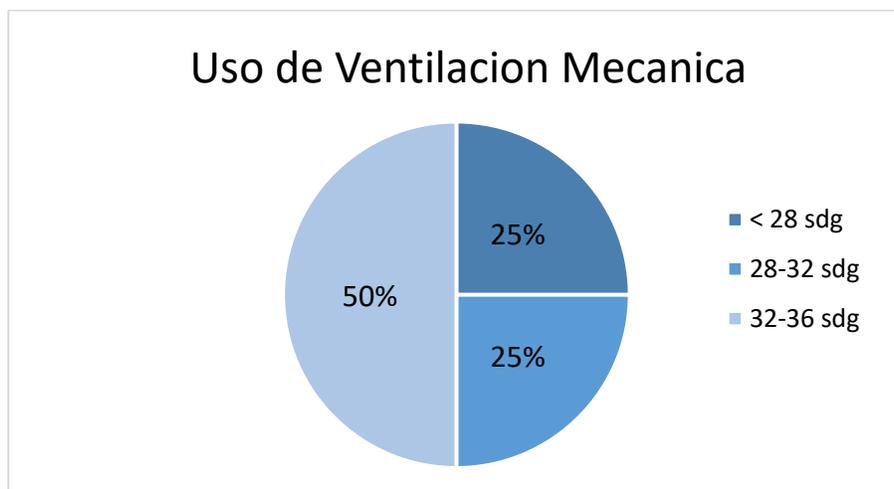


Gráfico.8 Tipo de alimentación enteral al ingreso del paciente

Ventilación mecánica

El uso de ventilación mecánica (VM) al momento de la toma inicial, se observó en 12 pacientes (37.5%), de los cuales dentro de los grupos de prematuridad se observó un mayor número en total 6 pacientes (50%) en el grupo de 32 a 36 SDG, siendo en el grupo de prematuros extremos y muy prematuros cifras iguales con un total de 3 pacientes en cada uno (25% cada uno). En la toma de egreso ninguno de los pacientes se encontraba bajo ventilación mecánica.



Gráfica.9 Uso de ventilación mecánica (VM) al ingreso del paciente

Paro cardiorrespiratorio

En cuanto a ésta variable, ningún paciente había presentado paro cardiorrespiratorio al momento de la toma inicial de muestra sanguínea, sin embargo al momento del egreso se encontró dicho antecedente en un solo paciente (3.1%) del grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) que había presentado paro cardiorrespiratorio de 1 a 2 semanas anteriores a la toma de muestra del egreso.

Patologías

Las patologías presentadas en estos pacientes que se decidió integrar en este estudio son: sepsis, enterocolitis necrotizante, hiperbilirrubinemia, síndrome de dificultad respiratoria, hemorragia intraventricular, displasia broncopulmonar, hipoglicemia neonatal.

En este caso se mencionará el número de eventos presentados, esto debido a que un mismo paciente pudo haber presentado varias de estas patologías al mismo tiempo, por eso se describe en las tablas de esta sección, una columna donde se reporta como porcentaje de eventos en relación al número final de eventos presentados.

Como se puede observar en la Gráfica.10.1, la presentación de las patologías al ingreso del paciente fue un total de 14 casos de sepsis (45.2%), un total de 3 casos (9.7%) de enterocolitis necrotizante y un total de 14 casos (45.2%) de hiperbilirrubinemia, dando un total de presentación de 31 casos (134.8%).

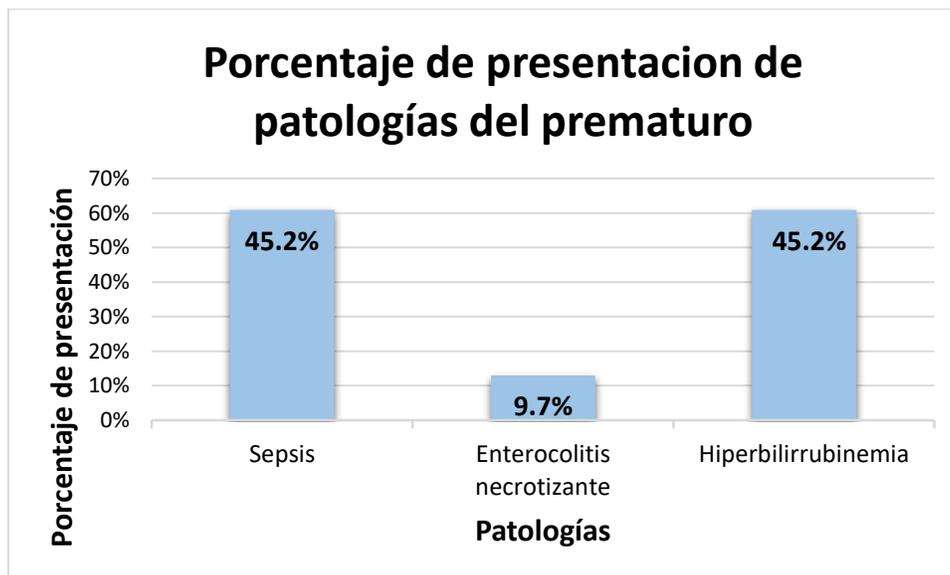


Gráfico. 10.1 Presentación de patologías del prematuro

PATOLOGIAS DEL PREMATURO				
				Porcentaje de casos
		Nº	Porcentaje	
Patologías del prematuro	Sepsis	14	45.2%	60.9%
	Enterocolitis necrotizante	3	9.7%	13.0%
	Hiperbilirrubinemia	14	45.2%	60.9%
Total		31	100.0%	134.8%

Tabla.8.1. Presentación de patologías al ingreso del paciente

La sepsis fue la patología que se encontró más frecuentemente en el grupo de pacientes muy prematuros (28 a 32 SDG) con un total de 6 casos (42.8% del total de casos positivos), siguiendo con el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG) un total de 5 casos (35.7%). En el caso de la enterocolitis necrotizante, fue en el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG) donde se encontró el mayor número de casos con 2 (66.6%), no encontrando ningún caso en el grupo de prematuros extremos (<28 SDG) En el caso de la hiperbilirrubinemia fue en el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG) donde se vieron el mayor número de casos con 7 casos (50%).

		Sepsis		Enterocolitis necrotizante		Hiperbilirrubinemia	
		Si	%	Si	%	Si	%
Clasificación de prematurez	< 28 sdg	3	21.4	0	0	2	14.2
	28-32 sdg	6	42.8	1	33.3%	5	35.7
	32-36 sdg	5	35.7	2	66.6%	7	50
	Total	14	100%	3	100%	14	100%

Tabla.8.2 Presentación de patologías al ingreso del paciente en relación a los grupos de prematurez.

Como se puede observar en la gráfica, la presentación de las patologías al ingreso del paciente fue un total de 17 casos de síndrome de dificultad respiratoria (56.7%), un total de 6 casos (20%) de hemorragia interventricular, un total de 5 casos (16.7%) de displasia broncopulmonar, y un total de 2 casos (6.7%) de hipoglicemia neonatal, dando un total de presentación de 30 casos (136.4%).

PATOLOGÍAS DEL PREMATURO				
		Nº	Porcentaje	Porcentaje de casos
Patologías del prematuro	Síndrome de Dificultad Respiratoria	17	56.70%	77.30%
	Hemorragia Interventricular	6	20.00%	27.30%
	Displasia broncopulmonar	5	16.70%	22.70%
	Hipoglicemia neonatal	2	6.70%	9.10%
Total		30	100.00%	136.40%

Tabla.8.3. Presentación de patologías al ingreso del paciente

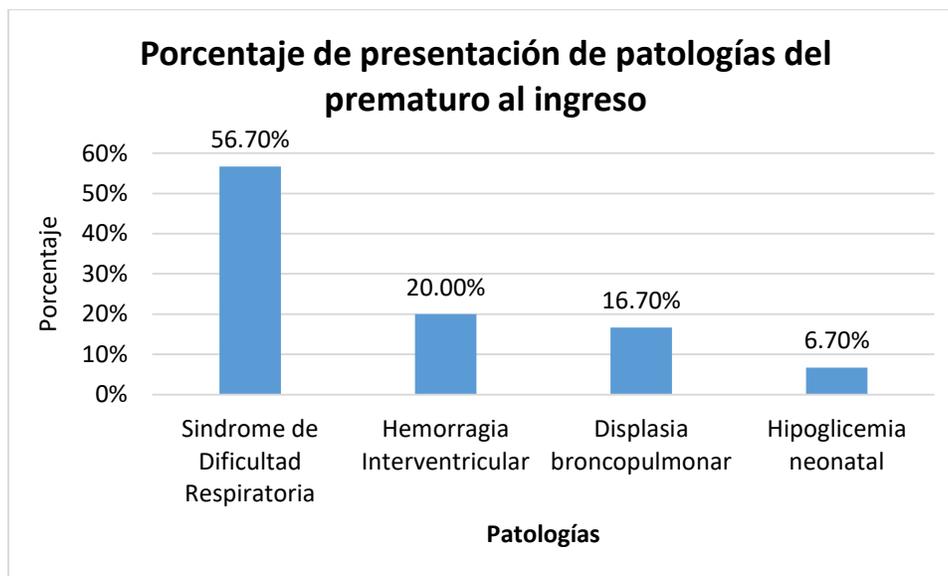


Gráfico. 10.2 Presentación de patologías del prematuro al ingreso

En esta tabla se puede observar la presentación de las patologías mencionadas, donde podemos observar que el síndrome de dificultad respiratoria se presentó en 17 casos, de los cuales el mayor grupo de presentación fue el de los muy prematuros (28 a 32 SDG) con un total de casos de 8 (47%), teniendo solo 3 casos (17.6%) en el grupo de prematuros extremos (<28 SDG). Para el caso de hemorragia intraventricular podemos observar que se presentaron 6 casos en total, el mayor número de casos lo tiene el grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) con un total de 3 casos (50%). Para la situación de la displasia broncopulmonar se presentaron 5 casos, y se observa que el mayor número de casos se encuentra nuevamente en el grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG)

con un total de casos de 3 (60%) y solo 1 caso (20%) en el de prematuros extremos (<28 SDG) y el mismo número para el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG). Y para el caso de la hipoglicemia neonatal se vieron 2 casos, únicamente presentes en el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG).

		Síndrome de Dificultad Respiratoria		Hemorragia Interventricular		Displasia broncopulmonar		Hipoglicemia neonatal	
		Si	%	Si	%	Si	%	Si	%
Clasificación de prematurez	< 28 sdg	3	17.6	1	16.6	1	20	0	0
	28-32 sdg	8	47	3	50	3	60	0	0
	32-36 sdg	6	35.2	2	33.3	1	20	2	100
	Total	17	100	6	100	5	100	2	100

Tabla.8. 4 Presentación de patologías al ingreso del paciente en relación a los grupos de prematurez.

En comparación, podemos describir también que al momento de la toma del egreso, se describen como antecedente diagnóstico, ciertas patologías que se agregaron durante su curso clínico, para ese momento del egreso ya resueltas. Se presentaron un total de 15 casos de sepsis (46.9%), un total de 3 casos (9.4%) de enterocolitis necrotizante y un total de 14 casos (43.8%) de hiperbilirrubinemia, dando un total de presentación de 32 casos (133.3%). Las patologías presentadas al momento de la toma del egreso, en el caso de la sepsis la mayoría se encontró en el grupo de pacientes muy prematuros (28 a 32SDG) con un total de 7 casos (46.6% del total de casos positivos), siguiendo con el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG) un total de 5 casos (33.3%). En el caso de la enterocolitis necrotizante, fue en el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG) donde se encontró el mayor número de casos con 2 (66.6%), no encontrando ningún caso (0%) en el grupo de prematuros extremos (<28 SDG) En el caso de la hiperbilirrubinemia fue en el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG) donde se vieron el mayor número de casos con 7 casos (50%).

Se reportan un total de 17 casos de síndrome de dificultad respiratoria (54.8.7%), un total de 6 casos (20%) de hemorragia interventricular, un total de 7 casos (22.6%) de displasia broncopulmonar, y un total de 1 casos (3.2%) de hipoglicemia neonatal, dando un total de presentación de 31 casos (147.6%).

El mismo caso de los antecedentes diagnósticos de patologías para ese momento ya resueltas, podemos mencionar al síndrome de dificultad respiratoria que se presentó en los mismos 17 casos, de los cuales el mayor grupo de presentación

fue el de los muy prematuros (28 a 32 SDG) con un total de casos de 8 (47%), teniendo 3 casos (17.6%) en el grupo de prematuros extremos (<28 SDG). Para el caso de hemorragia interventricular, quedando similar al ingreso, ahí podemos observar que se presentaron 6 casos en total, el mayor número de casos lo tiene el grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) con un total de 3 casos (50%). Para la situación de la displasia broncopulmonar se presentaron 7 casos, y se observa que el mayor número de casos se encuentra en el grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) con un total de casos de 4 (57.1%) y 2 caso (28.5%) en el de prematuros extremos (<28 SDG). Y para el caso de la hipoglicemia neonatal se observa 1 caso único (100%) presente en el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG).

Exámenes de laboratorio

Se puede observar en la tabla el reporte de exámenes de laboratorio encontrados en los pacientes al momento de la toma de muestra al ingreso hospitalario. Es importante tomar en cuenta que no todos los pacientes cuentan con todos los exámenes de laboratorio, por lo que no se cuenta con los exámenes completos de cada paciente. Los porcentajes reportados son el % del total de muestras obtenidas de un examen sanguíneo en particular. Se describirá con un “/” el número de muestras que presentan la alteración/ el número de muestras que se obtuvieron en total. Podemos observar que al ingreso los pacientes presentaron ciertas anomalías en la biometría hemática: 2/24 casos con anemia (8.3% del total de muestras obtenidas) en 7/24 casos se observó leucocitosis (29.1%), en 3/24 casos pacientes con leucopenia (12.5%) así como plaquetopenia en 7/ 24 casos. En cuanto a las alteraciones en la química sanguínea se puede observar creatinina elevada en 8/12 (66.6%), hipoglicemia en 4/18 pacientes (22.2%). En las pruebas de función hepática se observa transaminasemia en 1/3 paciente (33.3%), e hipoalbuminemia en 2/2 pacientes (100%).Se observó hiperlactatemia en 4/9 pacientes (44.4%). No se encontró alteraciones en la proteína C reactiva (PCR) y no contamos con muestra de amonio al ingreso de ningún paciente.

Laboratoriales al ingreso		Número
Anemia N=24 muestras	Si	2
	No	22
Leucocitosis N=24 muestras	Si	7
	No	17
Leucopenia N=24 muestras	Si	3
	No	21
Plaquetopenia N=24 muestras	Si	7
	No	17
PCR Elevada N=2 muestras	No	2
Hipoalbuminemia N=2 muestras	Si	2
Hipoglicemia N=18 muestras	Si	4
	No	14
Creatinina elevada N=12 muestras	Si	8
	No	4
Transaminasemia N=3 muestras	Si	1
	No	2
Hiperlactatemia N=9 muestras	Si	4
	No	5
Hiperamonemia	Sin muestra	

Tabla.9 Exámenes de laboratorio presentes en toma de muestra al ingreso

En cuanto a las muestras al egreso se puede observar alteraciones en la biometría hemática anemia en 2/7 casos, leucocitosis en 0/7 casos y leucopenia en 1/7 caso. En cuanto a las alteraciones en la química sanguínea, de las 3 muestras tomadas, ningún paciente presentó hipoglicemia, así como de las 2 muestras recabadas de creatinina, ninguna presentó alteración. En las pruebas de función hepática se observa transaminasemia en 1/ 2 paciente y no se cuenta con muestras de albumina. Ningún paciente presentaba hiperlactatemia. No se cuentan con muestras de proteína C reactiva (PCR) ni de amonio al egreso de ningún paciente.

Laboratorio al egreso		Número
Anemia N= 7 muestras	Si	2
	No	5
Leucocitosis N= 7 muestras	No	7
Leucopenia N= 7 muestras	Si	1
	No	6
Plaquetopenia N= 9 muestras	No	9
PCR elevada	Sin muestra	
Hipoalbuminemia	Sin muestra	
Hipoglicemia N=3 muestras	No	3
Creatinina elevada N=2 muestras	No	2
Transaminasemia N=2 muestras	Si	1
	No	1
Hiperlactatemia N=1 muestra	No	1
Hiperamonemia	Sin muestra	

Tabla.9.1. Exámenes de laboratorio presentes en toma de muestra al egreso

ARGININA EN SANGRE EN PAPEL FILTRO

En esta tabla se pueden observar que las concentraciones de arginina en sangre en papel filtro al ingreso, donde se observa 1 paciente con nivel bajo de arginina (3.1%), 30 pacientes con niveles normales (93.7%), y 1 paciente con arginina elevada (3.1%). En contraste se puede observar que la muestra en la toma del egreso del paciente, todas se encontraban en rangos normales.

NIVELES DE ARGININA EN SANGRE AL INGRESO / EGRESO					
		Niveles arginina			Total
		Bajo	Normal	Elevado	
	Ingreso	1	30	1	32
	Egreso	0	32	0	32
Total		1	62	1	64

Tabla.10.1 Clasificación de niveles en sangre de arginina al ingreso/egreso

ARGININA URINARIA

En esta tabla se pueden observar que las concentraciones de arginina urinaria al ingreso del paciente, 1 paciente con nivel elevado de arginina (3.1%), 29 pacientes con niveles normales (90.6%), y 2 pacientes sin muestra (6.2%). Se puede observar que en la muestra de la toma del egreso del paciente, 26 muestras se encontraban en rangos normales (81.2%), y 6 pacientes sin muestra (18.7%).

Tabla de Arginina en Orina al Ingreso / Egreso					
		Niveles de Arginina en Orina			Total
		Normal	Elevado	Sin muestra	
	Egreso	26	0	6	32
	Ingreso	29	1	2	32
Total		55	1	8	64

Tabla.10.2. Clasificación de niveles urinarios de arginina al ingreso/egreso

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, podemos comentar que en esta población analizada, encontramos una discreta predominancia de pacientes de sexo femenino (59%) que en este caso podría considerarse como un factor protector, debido a que lo reportado en la literatura es, que el ser de sexo masculino le confiere un mayor riesgo de mortalidad y complicaciones en prematuridad.^{5,6}

Las edades gestacionales reportadas varían en un rango de 26 a 36 SDG, se observó que el predominio de pacientes se encuentra a partir de las 30 SDG, esto de alguna forma confiere a los pacientes un mejor pronóstico de sobrevivencia, y menos riesgo de desarrollo de complicaciones y de gravedad de las mismas, como lo reportado en literatura para pacientes a menor edad gestacionales.⁸

Esto va de la mano con los grupos de prematuridad reportados en el presente trabajo, donde se observó que la mitad de los pacientes de este estudio pertenecen al grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG) que en este caso son los pacientes con menos riesgo de complicaciones. En nuestro estudio solo 3 pacientes es decir un 9.4% de los mismos, son pacientes prematuros extremos. (<28 SDG)

Un dato muy interesante encontrado, fue la prevalencia de peso bajo para edad gestacional, debido a que se reporta en este trabajo una cifra alarmante de 50% de los pacientes estudiados; es importante mencionar que en nuestro estudio no se reporta ningún paciente con peso elevado. Sin embargo estos pacientes con peso bajo para edad gestacional, como se describe en la literatura, tienen riesgo

de presentar deficiencias nutricionales, pobre ganancia de peso, dificultad para la alimentación,⁹ por lo que su condición es riesgo para desarrollo de complicaciones por el estado inmunológico, metabólico y nutricional que le impide tener una adecuada protección contra infecciones y complicaciones propias de su estado de prematuridad. Se observó predominio de pacientes con peso bajo para edad gestacional en un 28.1% en el grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG), que aunque pueden presentar dificultades en su recuperación, sin embargo los de menor edad gestacional son los más susceptibles, reportado en nuestro estudio 3.1% de pacientes prematuros extremos (<28 SDG) y 18.7% de pacientes muy prematuros. (28 a 32 SDG)

Un asunto muy importante describir es la nutrición de los pacientes, pues cabe mencionar que al momento de la toma de ingreso, el 31.3% de la población es decir 10 pacientes, (de los cuales 50% pacientes prematuros moderados, 32 a 36 SDG), contaban ya con aporte de nutrición parenteral, esto debido a condiciones que en su mayoría le obligaban a presentar ayuno por su estado de gravedad o complicaciones asociadas. Sin embargo como lo reportado en la literatura, los pacientes prematuros principalmente los de peso bajo es importante que cuenten con un aporte con nutrición parenteral, porque generalmente la leche materna es insuficiente para cumplir sus necesidades energéticas.⁹

De los 32 pacientes reportados al ingreso, 12 pacientes se mantuvieron en ayuno, 10 pacientes se encontraron recibiendo nutrición enteral, quienes en su mayoría se encontraban con leche humana (18.8%) seguida de fórmula para prematuro al 16% en un 12.5% de los casos. 4 pacientes se encontraban recibiendo alimentación mixta, es decir nutrición enteral y nutrición parenteral, que para el caso de los pacientes confiere mayor beneficio, si las condiciones clínicas lo permiten, poder iniciar paulatinamente la nutrición enteral, mientras se mantiene como complemento la nutrición parenteral para asegurar sus necesidades energética, y así con este aporte enteral temprano se evita daño a la mucosa intestinal por el ayuno prolongado.

Se pudo observar, en la alimentación administrada en la toma de muestra final del paciente, que el 88% de los pacientes se encontraban recibiendo ya nutrición enteral, y 9.4% recibiendo alimentación mixta, por lo que podemos que los pacientes en su mayoría ya se encontraban con administración de alimentación enteral, secundario lo más probable, a la mejoría de los pacientes y a la resolución de sus complicaciones, y esto nos habla de manera indirecta de un mejor estado clínico de los mismos; se observa el predominio de leche humana en la alimentación enteral en un 34.4 %, que para el caso de estos pacientes debe monitorizarse la ganancia de peso adecuada al egreso del paciente para asegurarse un adecuado desarrollo y crecimiento óptimo del recién nacido prematuro. Aparece el uso de fórmula extensamente hidrolizada en un 6.3%, como alternativa ante algún paciente en quien las otras fórmulas no fueron adecuadamente toleradas o sus condiciones clínicas anteriores no le permitían el uso de otro tipo de leche.

La ventilación mecánica se encontró en 12 pacientes (37.5%) al momento de la toma de muestra inicial, esto denota el grado de gravedad del paciente, encontrando que el 25% eran pacientes prematuros extremos (<28 SDG) sin embargo el mayor número pertenecían al grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG) en un 50%.

En cuanto a los exámenes de laboratorio presentados al ingreso del paciente un factor importante a mencionar es que no todos los pacientes contaban con todos los exámenes por lo que no se puede realizar un análisis estadísticamente significativo debido a la pobre cantidad de muestras por paciente. Sin embargo podemos comentar que en varios casos se pueden inferir, de manera indirecta con estos exámenes laboratoriales, el estado de gravedad por el que podrían estar cursando ciertos pacientes, por ejemplo anemia en 2/24 casos, leucopenia en 3/24 casos, leucocitosis en 7/24 casos, plaquetopenia en 7/24 casos en quienes bien pudo estar asociado al proceso séptico en varios de estos pacientes, así como gravedad de la patología presentada. Hiperlactatemia en 4/ 9 pacientes, transaminasemia en 1/3 pacientes, hipoalbuminemia en 2/2 pacientes, sin embargo no contamos con una mayor cantidad de muestras de los pacientes para poder realizar análisis estadísticamente significativos. En 8/12 se observaron pacientes con aumento de la creatinina sérica sin embargo hay estudios que refieren que ésta en el RN prematuro inicialmente puede aumentar antes de que se llegue a un estado de equilibrio y no representa necesariamente daño renal.³⁴ No se cuenta con muestra de amonio de ningún paciente para poder emitir algún análisis de la misma, recordando la relación que existe en la literatura entre hipoargininemia e hiperamonemia³³ por lo que sería importante realizar estudios donde se tomen muestras de amonio en los primeros días de vida del paciente para poder hacer correlación con los niveles de arginina sérica, debido a la alta prevalencia que se ha visto de esta asociación. Dentro del estudio la única muestra que arrojó resultado de hipoargininemia fue un paciente del grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG), con hemorragia intraventricular, de peso adecuado para edad gestacional, alimentado con leche humana, con presencia de hipoargininemia en la muestra de ingreso, con presencia de anemia y plaquetopenia, sin embargo aun con la presencia de estas dos entidades, no se considera estadísticamente significativo para emitir una conclusión. Estas alteraciones de laboratorio en la biometría hemática, incluso podrían explicarse por la misma condición de la hemorragia interventricular. Sería importante también conocer la evolución de las alteraciones en exámenes de laboratorio durante la hospitalización del paciente y no solo de manera inicial y final, porque hay exámenes de laboratorio que podrían tardar en mostrar una alteración/ o incluso estabilización de la misma, y esto puede causar confusión en la interpretación.

Dentro de las patologías presentadas, basadas en la literatura y su reporte de asociación con hipoargininemia, se describen en este estudio casos en primer lugar de:

-Sepsis en 14 pacientes (45% del total de pacientes), de los cuales el 42% pertenecía al grupo de pacientes muy prematuros (28 a 32 SDG) y 21.4% de pacientes extremos prematuros (<28 SDG). Esto de acuerdo a lo reportado en literatura donde se ha visto que la depleción de arginina incrementa la susceptibilidad a infecciones severas en prematuros, sin embargo en este estudio pudimos observar que no se encontraron pacientes con sepsis que presentaran niveles bajos de arginina. Resultados muy similares se encontraron en los diagnósticos de la toma del egreso.

- En el caso de la enterocolitis necrotizante, sólo 3 pacientes presentaron el diagnóstico al ingreso, de los cuales la mayoría (66%) pertenecía al grupo de pacientes prematuros moderados (32 a 36 SDG) y sin haber ni un solo caso de paciente prematuro extremo (<28 SDG) que presentara esta patología. Al egreso las estadísticas son similares. Esta patología se analizó debido a que lo reportado en la literatura es que las concentraciones de arginina plasmática reportadas en varios estudios son bajas en recién nacidos prematuros que presentan ECN.^{28,29}, sin embargo en este estudio se determinó que ningún paciente con ECN presentó niveles bajos de arginina.

-Referente a la hiperbilirrubinemia, 14 pacientes la presentaron de los cuales el 50% pertenecía al grupo de pacientes prematuros moderados (32 a 36 SDG). No se encontraron pacientes con hipoargininemia e hiperbilirrubinemia, sin embargo se encontró un paciente prematuro moderado con PAPEG con hiperbilirrubinemia, con aumento de la arginina sérica en la toma del ingreso, con aporte con nutrición parenteral, lo cual no es estadísticamente significativo y podría explicarse por el aporte parenteral. Resultados estadísticos muy similares se encontraron en los diagnósticos de la toma del egreso.

- En cuanto al síndrome de dificultad respiratoria, se encontró un total de 17 pacientes (56.7%) que presentaron esta entidad, siendo en su mayoría del grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) en total 8 pacientes (47%). Como se ha mencionado previamente hay descripciones sobre la asociación entre la gravedad del SDR en relación a niveles bajos de arginina sérica, sin embargo en este estudio no se presentó ningún paciente con hipoargininemia y SDR, de manera simultánea. Únicamente se pudo observar un caso de un paciente con SDR, del grupo de prematuros moderados con peso bajo para edad gestacional que cursaba al momento de la toma de ingreso con niveles elevados de arginina urinaria que podría hablar de manera indirecta de niveles bajos a nivel sanguíneo sin embargo en este paciente se presentaron niveles sanguíneos de arginina normales, sin embargo se considera que no es estadísticamente significativo. Resultados estadísticos muy similares se encontraron en los diagnósticos de la toma del egreso.

-La hemorragia intraventricular estuvo presente en 3 pacientes al ingreso, de los cuales la mayoría se presentó en el grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) en total 3 pacientes (50%). No se reportó asociación en la literatura entre hipoargininemia y hemorragia intraventricular. Sin embargo se reporta en este

trabajo, un paciente del grupo de prematuros moderados (32 a 36 SDG), con hemorragia intraventricular, de peso adecuado para edad gestacional, alimentado con leche humana, con presencia de hipoargininemia en la muestra de ingreso, con presencia de anemia y plaquetopenia, sin embargo se considera que no es estadísticamente significativo. Resultados estadísticos muy similares se encontraron en los diagnósticos de la toma del egreso.

-En relación a la displasia broncopulmonar se presentaron 5 pacientes con esta patología al ingreso de los cuales, 60% pertenecen al grupo de grupo de muy prematuros (28 a 32 SDG) en total 3 pacientes. Como se comentó en la literatura³²: Una deficiencia relativa de arginina o la inmadurez de la actividad del Óxido Nítrico (N9O) en los RN prematuros puede conducir a niveles deficientes de NO en los tejidos, vasoconstricción y lesión por reperfusión de isquemia y pueden predisponer al desarrollo de displasia broncopulmonar y favorecer su severidad, sin embargo no se encontraron pacientes con DBP e hipoargininemia. No se presentaron cambios con diferencias estadísticas importantes en los diagnósticos de la toma del egreso.

- En cuanto a los casos de hipoglicemia neonatal, se presentaron 2 casos, de los cuales el 100% pertenecía al grupo de pacientes prematuros moderados (32 a 36 SDG). Se han descrito también un rol importante de la arginina a través del óxido nítrico en la regulación de la glicemia y alteraciones en la misma con su nivel disminuido de arginina.²⁶ No se presentaron pacientes con hipoargininemia e hipoglicemia neonatal. No se presentaron cambios con diferencias estadísticas importantes en los diagnósticos de la toma del egreso.

CONCLUSIONES

Con todos estos datos ya mencionados, habiendo hecho un análisis y discusión de los resultados obtenidos, se pueden realizar diferentes conclusiones cardinales sobre este trabajo realizado:

- En esta muestra de recién nacidos prematuros hospitalizados, encontramos alteración en los niveles de arginina en sangre en papel filtro en 2/32 (6.25%) al ingreso, un caso correspondió a arginina baja y otro a arginina elevada.
- En el caso de las concentraciones de arginina en orina, 1/32 (3.1%) presentó alteración de este aminoácido, estando disminuido al ingreso del paciente.
- Todos los valores de arginina en sangre y en orina al momento del egreso estuvieron en límites normales.
- No se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa entre los niveles de arginina en sangre y orina con ninguna de las patologías analizadas.
- Encontramos un elevado número de recién nacidos prematuros en ayuno (37.5%), que si bien pudo ser debido al estado de gravedad, sin duda esto es un factor de riesgo para desnutrición del paciente, y riesgo de alteraciones metabólicas.

- Otro hallazgo importante es el estado nutricional de los pacientes que como podemos observar un 50% presentó peso bajo para edad gestacional, lo cual es un dato cardinal cuidar la nutrición de estos pacientes, valorar el uso de herramientas como la nutrición parenteral para poder satisfacer las necesidades energéticas en estos pacientes.
- En cuanto a las patologías mencionadas podemos concluir que aunque si existe presentación elevada de ciertas patologías como sepsis, hiperbilirrubinemia, síndrome de dificultad respiratoria, no se logró realizar una asociación de ninguna de estas patologías con la presentación de la hipoargininemia. Se observaron en su gran mayoría resultados normales de estos tanto en las muestras tomadas al ingreso como al egreso de la hospitalización del paciente.
- Es menester profundizar este estudio:
 1. Se necesita estudiar un mayor número de recién nacidos prematuros en donde se realicen determinaciones seriadas de arginina.
 2. Se necesita diseñar un estudio para correlacionar los niveles de arginina con las patologías presentadas, durante varios estadios de su evolución clínica, así como en su momento de mayor gravedad, para poder hacer comparaciones significativas.
 3. Es importante realizar más estudios en relación a la hipoargininemia, donde se tome en cuenta de manera detallada, el tipo de nutrición administrada durante toda la evolución clínica de los pacientes, así como determinar el aporte energético, cantidades ingeridas, uso de fortificadores, uso de fórmulas especiales, inicio temprano de estímulo enteral. Es vital dar un seguimiento en cuanto a peso, talla, perímetro cefálico y otros indicadores nutricionales y de desarrollo, para determinar cuál es el estado clínico nutricional del paciente durante toda su evolución clínica y así poder correlacionar con niveles de arginina.

ANEXOS

ANEXO 1. Cuestionario estandarizado para padres/tutores

ESTUDIO LONGITUDINAL DEL METABOLOMA DE RECIÉN NACIDOS PREMATUROS A LO LARGO DE SU EVOLUCIÓN CLÍNICA.

Cuestionario estandarizado para padres/tutores

Registro interno _____

Nombre de la madre _____

Edad materna _____

Gesta _____

Para _____

Abortos _____

Utilizó técnicas de reproducción asistida Sí No

Fecha de última regla: dd/mm/aaaa

Edad gestacional _____

Periodo intergenésico _____

Iniciación espontánea de trabajo de parto Sí No

Tipo de parto Vaginal

Cesárea

Producto único Sí No

Gesta múltiple Sí No

Número _____

Exposición ambiental

Fuma Sí No Cuanto? _____

Bebe Sí No Cuanto? _____

Otras drogas recreativas Sí No Cuáles? _____

Escolaridad materna _____

Edad y Escolaridad paterna _____

Peso de la madre al inicio _____

Peso de la madre al final _____

Talla de la madre _____

Medicamentos durante el embarazo Sí No

Ácido fólico Sí No

Otras vitaminas Sí No

Otros _____

Cirugías Sí No Cuales _____

Infecciones Sí No Tratamiento _____

Complicaciones en el embarazo Sí No Cuáles _____

Amenaza de parto pretermino Sí No Cuándo _____

Ruptura prematura de membranas Sí No

Condiciones patológicas preexistentes Sí No

Diabetes Sí No tratamiento _____

Hipertensión Sí No tratamiento _____

Obesidad Sí No tratamiento _____

Lupus Sí No tratamiento _____

Epilepsia Sí No tratamiento _____

Otras ¿cuáles? _____

Tratamiento _____

Número de consultas durante el embarazo _____

Clasificación socioeconómica _____

ANEXO 2. Carta de consentimiento informado.



Instituto Nacional de Pediatría
LABORATORIO DE ERRORES INNATOS DEL
METABOLISMO Y TAMIZ NEONATAL



SECRETARÍA

SALUD

ESTUDIO DEL METABOLOMA DE RECIÉN NACIDOS PREMATUROS A LO LARGO DE SU EVOLUCIÓN CLÍNICA. Protocolo 064/2013

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se le invita a usted (a su hijo/a) a participar en un estudio de investigación llamado "ESTUDIO LONGITUDINAL DEL METABOLOMA DE RECIÉN NACIDOS PREMATUROS A LO LARGO DE SU EVOLUCIÓN CLÍNICA". Es necesario que usted (su hijo/a) decida si participará o no en el mismo. Lea cuidadosamente este formato y pregunte al médico del estudio cualquier duda al respecto.

¿Para qué se efectúa este estudio?

Se realiza para conocer mejor la bioquímica de los niños recién nacidos prematuros, con el objetivo de saber si existen diferencias (excesos o deficiencias) en los compuestos que intervienen en el metabolismo para que nos permitan mejorar y personalizar su tratamiento médico, lo que impactará en forma positiva en la atención de los recién nacidos prematuros.

¿En qué consiste el estudio?

Este es un estudio que se llevará a cabo exclusivamente en el Servicio de Neonatología del Instituto Nacional de Pediatría, en el que se busca estudiar a 100 niños recién nacidos prematuros.

¿Quiénes pueden participar en el estudio?

Se está invitando a todos aquellos niños que hayan nacido antes de las 37 semanas de gestación.

¿Quiénes no deben participar en el estudio?

No participarán aquellos niños que hayan recibido transfusiones antes de su ingreso al INP.

¿Qué se me pedirá (se le pedirá a su hijo/a) que haga?

A los niños cuyos padres/tutores hayan autorizado su participación, se les tomarán 3 gotas de sangre en papel filtro y una muestra de 5 ml de orina, en los siguientes tiempos:

- 1) Al momento de su ingreso;
- 2) Al momento de su egreso y
- 3) Muestra semanal hasta el egreso (días 7, 14, 21, 28 de vida extrauterina).



¿Quién sufragará los gastos del estudio?

Este estudio no tendrá ningún costo para usted y será financiado por el Instituto Nacional de Pediatría (Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz), y es independiente del resto de los análisis de laboratorio y del costo de la atención rutinaria de su hijo(a).

¿Qué efectos indeseables pueden pasarme (pasar a su hijo/a) al participar en el estudio?

Este estudio implica un riesgo mínimo para el recién nacido, pues se utilizarán sólo 5 ml de orina, recolectada en una bolsa estéril. La punción para obtener las 3 gotas de sangre, se realizará con lancetas estériles especialmente diseñadas para los recién nacidos. La punción se realizará en el talón del recién nacido, es superficial y genera un dolor mínimo. En algunos casos, puede presentarse un pequeño hematoma (moretón) en el área de punción, mismo que resuelve en 2 o 3 días.

¿Qué debo hacer en caso de que tenga (tenga mi hijo/a) alguna molestia?

Cualquier molestia relacionada con este protocolo, debe acudir con la Dra. Marcela Vela Amieva, al Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz Neonatal, ubicado en el piso 9 de la Torre de Investigación del Instituto Nacional de Pediatría. Teléfono 56-06-32-31.

¿Qué beneficio puedo (mi hijo/a) puede) esperar?

La participación en este estudio tiene el beneficio de que con la primera muestra, se le realizará de manera simultánea el estudio de TAMIZ NEONATAL AMPLIADO, que consiste en el análisis de aminoácidos, acilcarnitinas y hormona estimulante de la tiroides, además se entregará el resultado escrito de dicho tamiz neonatal.

¿A quién debo llamar en caso de tener preguntas?

En caso de dudas debe contactarse con: Dra. Marcela Vela Amieva, Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz, Piso 9 de la Torre de Investigación del Instituto Nacional de Pediatría, teléfono 56-06-32-31 con la Dra. María Elena Ortega Ramírez, Médico adscrito al Servicio de Neonatología del INP, Teléfono 10840900 ext. 1232 ó con la Dra. Matilde Ruíz García Presidente del Comité de Ética, teléfono 10840900 ext. 1581 en caso de que tenga dudas sobre los derechos del participante.



¿ Puedo negarme a que mi hijo (a) participe en este estudio y se me puede pedir que abandone el estudio?

Usted es libre de participar en este estudio, si decide participar puede cambiar de opinión y retirarse del estudio en el momento que lo decida. Si decide no participar o se retira, no afectará su relación con el Instituto Nacional de Pediatría ni con los médicos que lo atienden.

¿ Quiénes van tener información de mis datos (de mi hijo/a)

Su nombre no será usado en ninguno de los estudios; las muestras no contendrán información personal, y se codificarán con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Los datos personales que contengan sus muestras sólo los conocerán los investigadores y son confidenciales y las publicaciones que se generen no van a incluir el nombre del participante.

¿ Qué se va a hacer con las muestras biológicas y los estudios de imágenes (si aplica).

Por disposición legal, las muestras biológicas son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación sus muestras no podrán serle devueltas; una vez realizado el análisis, se procederá a desecharlas de acuerdo con la normatividad vigente.

¿ Puedo conocer los resultados del estudio?

Los resultados del estudio inicial (muestra de ingreso) le serán entregados por escrito en el formato de Tamiz Neonatal ampliado del INP. Los resultados generales del estudio sólo se darán a conocer como productos de investigación (publicación del estudio).

Al firmar a continuación, acepto que:

- He leído este formato de consentimiento.
- He tenido la oportunidad de formular preguntas y éstas han sido contestadas.
- Entiendo que la participación de mi hijo (a) es voluntaria.
- Acepto que mi hijo (a) participe en el estudio
- Doy permiso para que se use y comparta la información referente a mi hijo (a) como se describe en este formato
- Puedo elegir que mi hijo (a) no participe en el estudio o que lo abandone en cualquier momento, comunicándolo al médico del estudio.



- Podría ser que mi hijo (a) tenga que abandonar el estudio sin mi consentimiento en caso de requerir otro tratamiento, si sufre alguna lesión relacionada con el estudio o si no sigue el plan de tratamiento del estudio.

México, D.F. a _____ de _____ de _____.

Nombre del niño (a) _____

Nombre y firma del padre, o tutor _____

Nombre y firma de la madre o tutor _____

Nombre y firma de la persona que conduce la carta _____

Revisión del Consentimiento:

Nombre y firma de Testigo 1 _____

(Es conveniente que anote su dirección) _____

Relación que tiene con el paciente _____

Nombre y firma de Testigo 2 _____

(Es conveniente que anote su dirección) _____

Relación que tiene con el paciente _____

Recbí copia de este consentimiento _____

Nombre y firma _____

Fecha _____

Del presente documento se realizan dos tantos originales que constan de 6 páginas. El participante se queda con uno de los originales, y el otro

ANEXO 3. METODOLOGÍA ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM

ANEXO 3. METODOLOGÍA ESPECTROMETRÍA DE MASAS EN TÁNDEM.

Reactivos y Consumibles:

- Perforador de papel de 1/8" (3mm) de diámetro, DELFIA Plate Punch.
- Micropipeta manual multicanal (8 canales), 30-300 µL.
- Kit NeoBase para MS/MS

Equipo: Espectrómetro de masas en tándem configurado para tamiz neonatal que consta de: Software NeoBase; Degasificador de vacío Series 200 PerkinElmer; Automuestreador Waters 2777C Sample Manager; Bomba binaria de líquidos de alta resolución Waters 1525µ; Espectrómetro de Masas en Tándem Micromass Quattro micro™ API.

Procesamiento de las muestras. Se realizará la reconstitución de los viales que contiene los estándares de aminoácidos, acilcarnitinas y succinilacetona con la solución de extracción, incluidos en el kit, después se realizará una dilución 1:110 para los aminoácidos y acilcarnitinas y una dilución 1:40 para succinilacetona de los estándares usando la solución de extracción. De esta forma se obtendrá la disolución de estándares internos deuterados de aminoácidos,

Se perforarán las muestras de

sangre seca en papel filtro obteniendo discos de 1/8" (3mm) de diámetro, los cuales se colocarán en microplacas con pozos de fondo cónico trunco, cada pozo debe contener solo un disco. Se agregarán 100 μ L de disolución de estándares internos a cada pozo para realizar la extracción de la sangre de los discos de papel filtro, inmediatamente después la placa será cubierta y sellada con una lamina de plástico adherible para evitar la evaporación del disolvente, posteriormente las placas se incubarán durante 30 minutos a 45°C con una velocidad de agitación de 650 a 750 rpm, éstas serán colocadas en el automuestreador, por último las muestras se introducirán al espectrómetro de masas en tándem mediante la bomba de líquidos

ANEXO 4. Metodología cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

ANEXO 4. PROCEDIMIENTO DE OPERACIÓN DEL EQUIPO DE CROMATOGRFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

REACTIVOS

- Hidroxilamina: o-(2, 3, 4, 5, 6-pentafluorobencil) hidroxilamina.
- Hidróxido de sodio 3N: pesar 12g de NaOH y aforar a 100 mL con agua.
- Hidróxido de sodio 0.05M / Metanol: Pesar 200mg de NaOH y aforar a 100 mL con metanol.
- Acetato de Etilo.
- Ácido Clorhídrico concentrado.
- Solución sobresaturada de Cloruro de Sodio.
- Solución de estándar interno: Pesar aproximadamente y con exactitud 2mg de Ácido dodecanedíico y aforar a 5mL con Metanol.
Conservar en refrigeración en frasco ámbar etiquetado con fecha de preparación.
- Reactivo derivatizante: Bis (trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA) + 1% trimetilcloro silano (TMS).

NOTA: Todos los reactivos se conservan a temperaturas ambiente excepto la solución estándar interno y el NaOH/MetOH.

CROMATOGRAFO:

Cromatógrafo de Gases marca Agilent modelo 6890N.

Sistema de detección: Espectrómetro de Masas marca Agilent modelo 5973N.

Columna utilizada: DB-5MS de 30m X 0.250mm de diámetro X 0.25µM de espesor de película.

Fase Móvil: Gas Helio de ultra alta pureza.

Gradiente de temperatura:

Temperatura Inicial 40° C

Temperatura Final 280° C

Flujo 1.2 mL/min

Tiempo de corrida 39 min.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVEMBRE	DICEMBRE	ENERO
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	■	■	■	■	■							
REVISIÓN MARCO TEÓRICO				■	■	■	■	■				
DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE LABORATORIO	■	■	■									
INCLUSIÓN DE PACIENTES		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
RECOLECCIÓN DE MUESTRAS		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO	■	■	■									
ANÁLISIS DE MUESTRAS		■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
ANÁLISIS DE DATOS						■	■	■	■	■	■	
ANÁLISIS DE RESULTADOS								■	■	■	■	■
ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO										■	■	■
CONCLUSIÓN Y DISCUSIÓN											■	■

BIBLIOGRAFIA

REFERENCIAS

1. WHO. (1976) Recommended definitions, terminology and format for statistical tables related to the perinatal period and use of a new certificate for cause of perinatal deaths. *World Health Organization*. Modifications recommended by FIGO as amended October 14, 1976.
2. Lawn JE, Cousens S, Zupan J; (2005) Lancet Neonatal Survival Steering Team. 4 million neonatal deaths: when? Where? Why? *Lancet* ;365:891-900.
3. Chang HH, Larson J, Blencowe H, Spong CY, Howson CP, Cairns-Smith S, et al. (2013) Preventing preterm births: analysis of trends and potential reductions with interventions in 39 countries with very high human development index. *Lancet*.381:223-34.
4. Ahued-Ahued J, Hernández-Andrade E, (2004) Patología fetal. En Rodríguez- Weber MA, Udaeta-Mora Eds. *Neonatología Clínica*. México, McGrawHill :53-78.
5. Organización Mundial de la Salud (2018). *Nacimientos prematuros* (Notas descriptivas, publicación en línea) URL: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/preterm-birth>
6. Hübner G, María Eugenia, & Ramírez F, Rodrigo. (2002). Sobrevida, viabilidad y pronóstico del prematuro. *Revista médica de Chile*, 130(8), 931-938. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872002000800015>
7. Gómez-Gómez M, Danglot-Banck C, Aceves-Gómez M, (2012). Clasificación de los niños recién nacidos. *Rev Mexicana de Pediatría*, 79(1), 32-39.
8. Mendoza Tascón L, Claros D, Mendoza Tascón L, Arias M, Peñaranda C, (2016). Epidemiología de la prematuridad, sus determinantes y prevención del parto prematuro. *Revista chilena de obstetricia y ginecología*, 81(4), 330-342. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75262016000400012>
9. Oliveros, M, Chirinos, J. (2008) Prematuridad: epidemiología, morbilidad y mortalidad perinatal. Pronóstico y desarrollo a largo plazo. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia [Internet]*. 54 (1):7-10. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=323428187002>

10. Chervenak FE, Mc Mullough L. The limits of viability. *J Perinat Med.* 1997;25:418-20.
11. Molina C R, López J, Muñoz H. (1980). Aspectos Epidemiológicos de la Prematurez. *Revista chilena de pediatría*, 51(6), 479-486. <https://dx.doi.org/10.4067/S0370-41061980000600006>
12. S. Rellan Rodríguez, C. García de Ribera y M. Paz Aragón Garcia. . (2008) El recién nacido prematuro. *Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la Asociación Española de Pediatría AEP: Neonatología*; cap 8; p. 68-77. Citado en: www.aeped.es/protocolos/
13. Dirección Nacional de Maternidad e Infancia Min Salud Nación, *Nutrición del niño prematuro. Recomendaciones para las Unidades de Cuidado Intensivo neonatal* Dirección Nacional de Maternidad e Infancia Ministerio Salud Nación, Argentina, Ed 2013. Disponible en : http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000709cnt-2015-10_nutricion-del-ninio-prematuro.pdf
14. Nelson DL, Cox MM. Bioenergetics and biochemical reactions types. In Nelson DL, Cox MM eds. *Lehninger Principles of Biochemistry. 5th edition* WH Freeman and Company, 2008, New York. pp. 486.
15. Fanos V, Lacovidou N, Puddu M, Ottonello G, Noto A, Atzori L. Metabolomics in neonatal life. *Early Hum Dev.* 2013 Jun;89 Suppl 1:S7-S10.
16. McCabe E.R. (2010) Inborn Errors of Metabolism: the metabolome is our world. Presidential address for the 11th International Congress of Inborn Errors of Metabolism (ICIEM). *Mol Genet Metab.*2010;100:1-5.
17. Dunn WB, Broadhurst DI, Atherton HJ, Goodacre R, Griffin JL. Systems level studies of mammalian metabolomes: the roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Chem Soc Rev*;40:387-426.
18. Antonucci R, Atzori L, Barberini L, Fanos V. Metabolomics: the "new clinical chemistry" for personalized neonatal medicine. *Minerva Pediatr* 2010;3 Suppl 1:145-8.
19. Fanos V, Antonucci R, Barberini L, Atzori L. Urinary metabolomics in newborns and infants. *Adv Clin Chem.* 2012;58:193-223.
20. Xia J, Wishart DS. Web-based inference of biological patterns, functions and pathways from metabolomic data using MetaboAnalyst. *Nat Protoc.* 2011;6:743-60.
21. Yanes, O. (2015), Metabolómica: la ciencia ómica más multidisciplinaria. *Revista de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular*, Ed.186/ dic 2015, La metabolómica: un déjà vu por la historia de la bioquímica.

22. Fernández-Lainez, C., & Vela-Amieva, M., & Ibarra-González, I. (2009). Espectrometría de masas en tándem: una nueva herramienta para el estudio de la metabolómica en pediatría. *Acta Pediátrica de México*, 30 (5), 258-263.
23. Contreras M, Gallardo M, Betancourt L, (2015) Niveles séricos de Arginina y Citrulina en neonatos: un estudio comparativo con enfoque a la prematuridad. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 65 (1), Venezuela.
24. Wijnands, K. Castermans T, Hommen M, Meesters D, (2015). Arginine and Citrulline and the Immune Response in Sepsis. *Nutrients*. 7. 1426-1463. DOI 10.3390/nu7031426.
25. Luiking Y, Poeze M, Graham R, (2005). The Role of Arginine in Infection and Sepsis. *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition*. 29. S70-4. DOI 10.1177/01486071050290S1S70.
26. Guoyao W, Jaeger L, Bazer F, Rhoads J. (2004). Arginine deficiency in preterm infants: Biochemical mechanisms and nutritional implications. *The Journal of nutritional biochemistry*. 15. 442-51. DOI 10.1016/j.jnutbio.2003.11.010.
27. García S, Ruza F. Terapéutica nutricional: Arginina. En: Ruza F., editors. *Cuidados Intensivos Pediátricos*. 3.^a ed. Madrid: Norma-Capitel; 2003.
28. M. S. El-Shimi, H. A. Awad, M. A. Abdelwahed, M. H. Mohamed, S. M. Khafagy, and G. Saleh, "Enteral L-Arginine and Glutamine Supplementation for Prevention of NEC in Preterm Neonates," *International Journal of Pediatrics*, vol. 2015, Article ID 856091, 7 pages, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/856091>.
29. Shah PS, Shah VS, Arginine supplementation for prevention of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2007, Issue 3. Art. No.: CD004339. DOI 10.1002/14651858.CD004339.pub3
30. Schanler RJ. (2014) Prevention of necrotizing enterocolitis in newborns. *In: UpToDate, Kim MS (Ed)*, UpToDate, Waltham, MA. Available on: <https://www.uptodate.com/contents/neonatal-necrotizing-enterocolitis-prevention>
31. Zamora S, Harish A, Mcmillan D, Gordon F, (1996). Plasma arginine levels and systemic blood pressure (bp) in premature babies with respiratory distress syndrome (rds). *Pediatric research - Pediat Res*. 39. DOI 10.1203/00006450-199604001-01538

32. Polycarpou E, Zachaki S, Polycarpou N, Gavriil S, L-arginine for chronic lung disease (CLD) in preterm neonates, *European Respiratory Journal* Sep 2013, 42 (Suppl 57) P2056.
33. Batshaw M, et al. Arginine-responsive asymptomatic hyperammonemia in the premature infant, *The Journal of Pediatrics* , Volume 105 , Issue 1 , 86 – 91.
34. Pérez E, Marín J. Evaluacion de la funcion renal en el recién nacido.(2014)*Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la Asociación Española de Pediatría AEP: Neonatología; cap 1; p. 37-51. Citado en: www.aeped.es/protocolos/*