



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**

**Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE**

**TECNOLOGÍA MÉDICA**

**ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMIA  
PATOLÓGICA**

**“VALORACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA  
ANTIOXIDANTE DE LA SUPEROXIDO DISMUTASA EN  
SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL DE NEONATOS DEL  
HOSPITAL II LIMA NORTE - LUIS NEGREIROS VEGA”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE LICENCIADO  
TECNÓLOGO MÉDICO EN EL ÁREA DE LABORATORIO  
CLÍNICO Y ANATOMIA PATOLÓGICA**

**GRISSEL MARIA CARBONERO SUCLLA**

**ASESOR:**

**Lic.TM DELGADO GARCIA ADALBERTO.**

**Lima, Perú**

**2016**

# HOJA DE APROBACIÓN

CARBONERO SUCLLA GRISEL MARIA

**“VALORACION DE LA ACTIVIDAD ENZIMATICA ANTIOXIDANTE DE LA SUPEROXIDO DISMUTASA EN SANGRE DE CORDON UMBILICAL DE NEONATOS DEL HOSPITAL II LIMA NORTE - LUIS NEGREIROS VEGA.”**

Esta tesis fue evaluada y aprobada para la obtención del título de Licenciado en Tecnología Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica por la Universidad Alas Peruanas.

---

---

---

LIMA – PERÚ

2016

Se Dedicar este Trabajo:

A Dios, que es la luz que guía nuestros caminos. A mis padres y hermano, por el inmenso amor y apoyo constante, por sus valiosos y sabios consejos que me ayudan a afrontar cada reto en mi vida y por confiar en mí para alcanzar mis metas.

Se Agradece por su Contribución para el Desarrollo de esta Tesis a:

A la “UNIVERSIDAD ALAS PERUANAS” mi Alma Mater, a quien la llevo siempre presente.

Al HOSPITAL LUIS NEGREIROS VEGA por el permiso de realizar el presente trabajo de investigación, en especial a la Dra. Cárdenas López Frida jefe del Área de Laboratorio Clínico; a el Mg. Lic. TM. Delgado García Adalberto, mi asesor y amigo, por su apoyo y conocimientos brindados; a el Dr. Fang Merino Alfredo jefe del área de Ginecología Obstetricia y Sala de partos; a las obstetricas que contribuyeron de manera altruista.

## RESUMEN

El periodo que ocurre desde la concepción hasta el nacimiento, es una etapa de cambios fisiológicos en el que debe haber un balance entre las moléculas prooxidantes, como los radicales libres de oxígeno y el sistema de defensa antioxidante; para evitar daño a biomoléculas, pérdida de sus funciones y muerte celular.

El tipo de estudio realizado es descriptivo transversal, se determinó cuantitativamente el nivel de la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en eritrocitos de cordón umbilical de 70 neonatos, aparentemente sanos, tomados en el momento preciso del nacimiento. Se determinó también la cantidad de Hemoglobina en las muestras para proporcionar un dato más preciso de la actividad enzimática. El instrumento utilizado fue una ficha de recolección de datos, en el que se consignó los criterios de selección y las variables de estudio como edad gestacional, sexo y peso neonatal.

No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los valores obtenidos para la actividad enzimática de la Superóxido Dismutasa y las edades gestacionales: neonatos pretérmino  $3394,58 \pm 460,61$  con los neonatos a término  $3822,50 \pm 906,05$  ( $p > 0,05$ ); recién nacidos pretérmino con los neonatos posttérmino  $4082,56 \pm 573,23$  ( $p > 0,05$ ). Y recién nacidos a término con los neonatos posttérmino. ( $p > 0,05$ ). No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los valores obtenidos para la actividad enzimática de la Superóxido Dismutasa y los pesos: recién nacidos con peso normal  $3749,42 \pm 900,18$  con recién nacidos macrosómicos  $4033,68 \pm 601,07$  ( $p > 0,05$ ). No se encontró diferencia estadísticamente

significativa entre los valores obtenidos para la actividad enzimática de la Superóxido Dismutasa y los sexos: recién nacidos con sexo masculino  $3912,36 \pm 1059,13$  con recién nacidos con sexo femenino  $3615,80 \pm 502,72$  ( $p > 0,05$ ).

**Palabras clave:** Superóxido Dismutasa; Radical Superóxido; Radicales libres; Estrés oxidativo.

## ABSTRACT

The period occurs from conception to birth, it is a stage of physiological changes that must be a balance between pro-oxidant molecules such as oxygen free radicals and antioxidant defense system to avoid damage to biomolecules, loss of their duties and cell death.

The type of study is done cross descriptive quantitatively determine the level of the antioxidant enzyme superoxide dismutase activity in erythrocytes of 70 newborns umbilical cord, apparently healthy, taken at the precise time of birth. The amount of hemoglobin were also determined in the samples to provide a more accurate data enzyme activity. The instrument used was a form of data collection, in which the selection criteria and the study variables such as gestational age, sex and birth weight was recorded.

3394.58 ± 460.61 preterm vs 906.05 ± 3822.50 term ( $p > 0.05$ ): No statistically significant difference between the values obtained for the enzyme activity of superoxide dismutase and gestational ages found; preterm infants 3394.58 4082.56 ± 460.61 ± 573.23 postterm s.c ( $p > 0.05$ ). And term newborns 3822.50 4082.56 ± 906.05 ± 573.23 postterm s.c ( $p > 0.05$ ). normal-weight newborns 3749.42 ± 900.18 vs 4033.68 ± macrosomic newborns 601.07 ( $p > 0$ : No statistically significant difference between the values obtained for the enzyme activity of superoxide dismutase and weights found 05). male newborns 3912.36 ± 1059.13 newborns with female 3615.80 ± 502.72 ( $p >$ : No statistically significant difference between the values obtained for the enzyme activity of superoxide dismutase and sexes found 0.05).

**Keywords:** superoxide dismutase; Superoxide radical; Free radicals; Oxidative stress.

## INDICE

CARATULA	1
HOJA DE APROBACION	2
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	7
LISTA DE CONTENIDO (INDICE)	8
INTRODUCCION	14
CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACION	15
1.1. Planteamiento del problema	16
1.2. Formulación del problema	17
1.2.1. Problema General	17
1.2.2. Problema Específicos	17
1.3. Objetivos	18
1.3.1. Objetivo General	18
1.3.2. Objetivos Específicos	18
1.4. Justificación	19

CAPITULO II: MARCO TEORICO	20
2.1. Radicales libres	20
2.1.1. Radical Superóxido	25
2.2. Estrés oxidativo	27
2.2.1. Implicaciones del estrés oxidativo en el periodo perinatal	28
2.3. Peso en el neonato	33
2.4. Edad gestacional	35
2.5. Genero	36
2.6. Sistemas fisiológicos antioxidantes	36
2.6.1. Superóxido Dismutasa	37
2.7. Antecedentes de la investigación	39
2.7.1. Antecedentes internacionales	39
2.7.2. Antecedentes nacionales	42
CAPITULO III: METODOLOGIA	45
3.1. Diseño del estudio	45
3.2. Población y muestra	45
3.2.1. Criterios de inclusión	45
3.2.2. Criterios de exclusión	46
3.3. Operacionalización de las variables	47

3.4.	Procedimientos y técnicas	48
3.4.1.	Datos de la madre y el neonato	48
3.4.2.	Obtención de la muestra	48
3.4.3.	Determinación de la actividad SOD	49
3.4.4.	Determinación de la hemoglobina por el método de Drabkin	53
3.5.	Plan de análisis de datos	54
CAPITULO IV: RESULTADOS		55
4.1.	Resultados	65
4.2.	Discusión de resultados	68
4.3.	Conclusiones	69
4.4.	Recomendaciones	70
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		71
ANEXO N° 1		78
ANEXO N° 2		79

## LISTA DE TABLAS

Tabla N° 1: Clasificación del recién nacido de acuerdo a su edad gestacional	54
Tabla N° 2: Clasificación del recién nacido de acuerdo a su peso.	55
Tabla N° 3: Datos sobre el Peso y talla en el recién nacido.	56
Tabla N° 4: Clasificación del recién nacido de acuerdo a su sexo.	57
Tabla N° 5: Promedio de Hemoglobina (gr/dl) en sangre de cordón.	58
Tabla N° 6: Promedio de Actividad SOD U/gr Hb en la muestra.	59
Tabla N° 7: Actividad SOD U/gr Hb según edad gestacional.	60
Tabla N° 8: Actividad SOD U/gr Hb según la distribución del peso.	62
Tabla N° 9: Actividad SOD U/gr Hb según la distribución del sexo .	64

## LISTA DE GRAFICOS

Grafico N° 1: Porcentaje de la muestra clasificada por edad gestacional.	55
Grafico N° 2: Porcentaje de la muestra clasificada según su peso.	56
Grafico N° 3: Porcentaje de la muestra según sexo.	58
Grafico N° 4: Promedio de la actividad SOD según edad gestacional.	61
Grafico N° 5: Promedio de la actividad SOD según peso.	63
Grafico N° 6: Promedio de la actividad SOD según sexo.	64

## **ABREVIATURAS:**

**CAT:** Catalasa

**GPx:** Glutati3n Peroxidasa.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Per3xido de hidr3xeno.

**HIF:** Factor inducible de la hipoxia.

**Kcal:** kilocalor3as.

**MDA:** Malondialdeh3do.

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>:** An3n Radical Super3xido.

**O<sub>2</sub>:** Ox3geno

**PaO<sub>2</sub>:** Presi3n parcial de ox3geno,

**RCIU:** Retraso en el crecimiento intrauterino.

**REDOX:** Reacciones bioqu3micas de oxido reducci3n.

**RLO:** Radicales libres de ox3geno

**ROS:** Especies reactivas de ox3geno.

**SOD:** Enzima Super3xido Dismutasa.

**ATP:** Adenosin Trifosfato (Trifosfato de Adenosina).

**APGAR:** Sistema de puntuaci3n de evaluaci3n neonatal.

## INTRODUCCION

En la naturaleza casi todo es oxidado por el oxígeno, alrededor de 2 a 3% del oxígeno que utiliza una célula, es convertido en radicales libres<sup>1</sup>. Las especies reactivas del oxígeno (ERO); son moléculas altamente dañinas que atacan a la célula directamente mediante las reacciones bioquímicas de óxido reducción, esta elevada reactividad puede provocar la peroxidación lipídica, daño de membrana celular, rotura de ADN, degradación proteica y con ello graves consecuencias en la salud<sup>2-3</sup>.

Varios reportes indican que el estrés oxidativo dado por el desbalance entre ERO y la defensa antioxidante en el embarazo; está envuelto en los defectos del desarrollo, retardo del crecimiento del embrión y por ende; reflejado en el peso al nacer. El Ministerio de Salud, mediante el Instituto nacional de Estadística e Informática (INEI), indica que mientras menos semanas de gestación cumplan los recién nacidos, mayor incidencia de bajo peso al nacer<sup>4</sup>. Dentro de la efectividad de los sistemas de defensa antioxidantes, se encuentra la Superóxido Dismutasa (SOD); descubierta el 1969 por Mc Cord y Fridovich, encargada de la remoción de los radicales Superóxido; producidos en la cadena de transporte de electrones mitocondrial, convirtiéndolos en peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)<sup>5</sup>. Un apropiado sistema de defensa antioxidante placentario de la gestante, permite una adecuada ganancia en el peso fetal<sup>6-7</sup>. (INEI); informa que en el Perú; el promedio de nacimientos vivos inscritos en Lima Metropolitana entre los años 2013 al 2014, fue de 177,767<sup>8</sup>. La Encuesta demográfica y de Salud Familiar (ENDES) informa que en el año 2014 hubo un 0,4% menos de los nacimientos vivos, con bajo peso al nacer; a comparación del porcentaje encontrado en el año 2009<sup>9</sup>.

La OMS plantea que 1 de cada 6 neonatos nace con bajo peso con un índice del 17% a nivel mundial, y esto asociado a muerte perinatal<sup>10</sup>. La edad gestacional o grado de maduración fetal juega un papel fundamental en la susceptibilidad del desarrollo de diversos procesos que afectan al recién nacido, así los neonatos pre-término, de ambos sexos están afectos a un mayor estrés oxidativo por la inmadurez de sus sistemas antioxidantes<sup>6</sup>. Los antecedentes de estudios nacionales muestran actividad enzimática en adultos pero no en neonatos.

El propósito de este trabajo es valorar la relación entre el nivel de actividad antioxidante de la enzima Superóxido Dismutasa dosada en sangre de cordón umbilical; en neonatos de diferentes edades gestacionales, pesos y sexos.

# CAPÍTULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

## 1.1. Planteamiento del Problema:

El embarazo es un estado de cambios tisulares, vasculares y musculares; estos procesos oxidativos están determinados por el aumento en el consumo de oxígeno y formación de algunas especies reactivas, que cumplen una función celular en niveles fisiológicos. Si hay un desequilibrio a favor de los pro-oxidantes; el estrés oxidativo terminará dañando a moléculas de gran importancia biológica para el feto, afectando la evolución normal de la gestación ocasionando graves consecuencias<sup>6, 7, 11</sup>.

Se han asociado a las ERO, a pre-eclampsia, eclampsia, e infecciones que tienen en común alteraciones vasculares y provocan partos con bajo peso y prematuridad<sup>12</sup>.

El bajo peso al nacer representa uno de los indicadores determinantes de mortalidad en el primer año de vida sobre todo asociándolos a la edad gestacional<sup>4, 13</sup>. Saber si existen diferencias en cuanto al sexo, en la madurez del sistema antioxidante neonatal; es aun no demostrado. En el 2014 del total de nacimientos inscritos en Lima Metropolitana, el 51,1% fueron hombres y el 48,9% mujeres.<sup>8</sup> Relación que se mantiene desde estadísticas anteriores.<sup>4</sup>

En cuanto a la actividad de varios sistemas antioxidantes, se ha comprobado un aumento progresivo principalmente hacia el 3er trimestre; en el caso de los neonatos pretérmino, esta transferencia de nutrientes que incrementa el crecimiento intrauterino y posteriormente el peso neonatal con efecto

antioxidante, no se completa, mientras algunos de los sistemas enzimáticos no terminan de madurar<sup>7</sup>.

## **1.2 Formulación del Problema:**

### **1.2.1. Problema General**

¿Cuánto es la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos?

### **1.2.2. Problemas Específicos**

**1.2.2.1** ¿Cuánto es la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos según su edad gestacional?

**1.2.2.2** ¿Cuánto es el nivel de actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical de los neonatos según su peso?

**1.2.2.3** ¿Cuánto es el nivel de actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical de los neonatos según su sexo?

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1. Objetivo General**

Determinar la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos.

### **1.3.2. Objetivos Específicos**

**1.3.2.1** Determinar la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos según su edad gestacional.

**1.3.2.2** Determinar la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos según su peso.

**1.3.2.3** Determinar la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos según su sexo.

#### **1.4 Justificación**

El periodo que ocurre desde la concepción hasta el nacimiento, es una etapa de maduración fetal, diferenciación celular y cambios fisiológicos muy sensibles a alteraciones del medio intrauterino. El desbalance a corto o largo plazo del equilibrio pro-oxidantes/antioxidantes a favor de los primeros; puede afectar la función de la placenta con efectos en el desarrollo, modificando la evolución normal de la gestación. Este estrés oxidativo produce daño a biomoléculas, pérdida de sus funciones y muerte celular. Las ERO; tienen un rol predominante en este desequilibrio acarreado consecuencias como; el bajo peso al momento del nacimiento y prematuridad. Y lo que aún no está demostrado es si existen diferencias en cuanto al sexo, respecto a la madurez del sistema antioxidante neonatal. Sabiendo que existen estudios previos que indican una relación directa de las ERO, con enfermedades que se originan durante la etapa del desarrollo fetal y que se reflejan a posterioridad; el presente estudio pretende evidenciar el estado del sistema de defensa antioxidante, en población peruana neonatal, siendo esta la etapa donde ocurre una mayor demanda de estos sistemas; permitiendo así tomar medidas correctivas y/o preventivas en este periodo y también evidenciaría la importancia de esta medición para incluirla como parte del tamizaje neonatal.

## CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

### 2.1. Radicales Libres

Un conjunto de átomos que forma una materia; sufre transformaciones químicas; se rompe alguno de los enlaces, que mayormente están constituidos por dos electrones, que mantienen unidos a dichos átomos; dando lugar a la formación momentánea de especies intermediarias inestables que se transforman rápidamente y producen moléculas diferentes a las de partida. De esta manera, un radical libre se define como un átomo o grupo de átomos que contiene un electrón desapareado dentro de su estructura u orbital externo (están oxidados), es decir; estos electrones en vez de estar agrupados, están sueltos y buscan ceder o ganar electrones, por lo que son muy reactivos e inestables<sup>3,14</sup>.

En la mayor parte de los casos; estas especies son entidades altamente reactivas que tienen un tiempo de vida media menor de 1  $\mu\text{seg}$ <sup>14</sup>.

El 95 a 98% del oxígeno celular; es reducido por reacciones enzimáticas de manera bivalente y el restante de modo monovalente; formando así los radicales libres de oxígeno, que para agrupar algunos compuestos como él ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), que no es esencialmente un radical, se prefiere utilizar el término ERO; especies reactivas de oxígeno<sup>3, 15, 16</sup>.

## **Formación de Radicales**

Un radical libre se forma cuando: un enlace de la molécula se fragmenta homolíticamente, es decir cuando ambos productos de la fragmentación se llevan uno de los dos electrones que al principio constituía dicho enlace; para lo cual se debe suministrar la suficiente energía para disociar el enlace<sup>14</sup>.

La mayor parte de las reacciones sobre radicales libres se llevan a cabo a través de un mecanismo sucesivo, que se compone de tres etapas principales; inicio, propagación y terminación. Etapas en la que se genera más de una molécula de producto, por cada evento de iniciación<sup>5, 14</sup>.

ERO; Es un término que incluye radicales libres y otras especies no radicalarias, pero que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de los agentes pro-oxidantes en el embarazo normal<sup>2-5,6</sup>.

Las ERO; son moléculas altamente reactivas, interviniendo en reacciones bioquímicas de óxido-reducción; necesarias para las vías de transducción de señales que controlan el crecimiento celular. En circunstancias normales, estas se generan en pequeñas cantidades durante el transporte de electrones mitocondrial, la fagocitosis, el metabolismo de fármacos, entre otros, y son efectivamente neutralizadas por los diferentes niveles del sistema de defensa antioxidante; como el radical anión Superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) que se produce por la reducción univalente del  $O_2$  cuya fuente más importante es la NADPH oxidasa, durante el estallido respiratorio<sup>2, 14</sup>.

La producción del radical anión Superóxido; es el primer acontecimiento común en todo el proceso, dando lugar posteriormente al resto de las ERO, mediante una reducción monoeléctrica<sup>15</sup>.

El ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) puede reaccionar con otro radical Superóxido produciendo el radical hidroxilo ( $\text{OH}\cdot$ ), en la reacción de Haber-Weiss; reacción que está catalizada por metales de transición, como el Hierro y el Cobre; luego el radical ( $\text{OH}\cdot$ ) se encuentra entre los oxidantes más potentes conocidos, puede atacar a prácticamente todas las moléculas presentes en la célula<sup>17</sup>.

*Corría Osorio J; Cruz Manzano E<sup>7</sup> (2009)*, En experimentos *in vitro* sobre gestación normal, muestra que; el incremento en la utilización del  $\text{O}_2$ , por el embrión está relacionado con un aumento en la generación de ERO. La extensión de estos resultados a modelos murinos demuestra que el exceso de radicales libres; está envuelto en el bloqueo del desarrollo. Concluye que un adecuado flujo sanguíneo útero-placenta-feto; es esencial para un buen crecimiento fetal.

### **Fuentes de radicales libres:**

La principal fuente celular de producción de radicales libres en mamíferos es la mitocondria; a nivel de la cadena de transporte de electrones, generando (ATP), de allí que sus componentes estén expuestos a un flujo constante de estas especies químicas<sup>15, 16, 18</sup>.

*Waypa GB et al<sup>9</sup>. (2001)*, Sugiere que la cadena de transportes de electrones mitocondrial; actúa como un sensor de  $\text{O}_2$  durante la hipoxia, mediante la liberación de ERO, que funcionan como mensajeros de señalización.

El DNA mitocondrial está cercano a los sitios de producción de radicales libres de oxígeno; carece de las histonas que están asociadas al DNA

nuclear; por lo tanto es un blanco muy sensible al ataque de los radicales de oxígeno. Si el DNA mitocondrial es dañado; no se forman correctamente los complejos I y IV de la cadena de transportes de electrones, se altera así la integridad y funcionabilidad de las mitocondrias; de este modo disminuye la producción de ATP, con la consiguiente alteración de la función celular<sup>20</sup>.

Entre otras fuentes endógenas se encuentran los peroxisomas, leucocitos, membrana plasmática, retículo endoplasmático; también en endotelios donde se encuentra la enzima Xantina Deshidrogenasa, que cuando pasa a la forma Xantina Oxidasa genera al anión Superóxido; pudiendo ser generados como reacciones secundarias entre biomoléculas. Entre las fuentes exógenas se encuentra la dieta, medicamentos, ozono, radiaciones, humo, ejercicio intenso, hiperventilación, entre otros<sup>15, 18</sup>.

### **Efecto nocivo de los radicales libres:**

El citotoxicidad celular producida por las especies reactivas del oxígeno ERO; ocurre sobre diferentes macromoléculas, las más importantes:

- a) **Lípidos.** Son las moléculas donde se produce el mayor daño llamando a este proceso peroxidación lipídica; afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados; alterando la permeabilidad de la membrana celular provocando edema y muerte celular<sup>5</sup>.
- b) **Proteínas.** En estas existe oxidación de un grupo de aminoácidos como: tirosina, histidina, fenilalanina y metionina; además hay

entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y también formación de grupos carbonilos<sup>5</sup>.

- c) **Ácido desoxirribonucleico.** Aquí ocurren mutaciones, carcinogénesis, pérdida de la expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases nucleicas, deleciones, interacciones estables ADN-proteínas, fragmentaciones, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes. Como consecuencia hay una pérdida de la integridad y disfunción metabólica celular <sup>5</sup>.

#### **Tipos de radicales libres:**

Dentro de las especies radicalarias de interés biológico; están el anión radical Superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxilo ( $\bullet OH$ ), óxido nítrico ( $\bullet NO$ ), radical dióxido de nitrógeno ( $\bullet NO_2$ ), radical hidropéroxilo ( $HO_2\bullet$ ), radical peróxilo ( $RO_2\bullet$ ) y radical alcóxilo ( $RO\bullet$ )<sup>2, 5, 14</sup>.

Los radicales libres se representan colocando un punto sobre el símbolo del átomo que contiene al electrón desapareado<sup>14</sup>.

Las especies no radicalarias de interés biológico son: ácido hipocloroso ( $HOCl$ ), anión peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y oxígeno singlete ( $^1O_2$ )<sup>2</sup>.

### 2.1.1 Radical Anión Superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ )

Se forma a partir de una molécula de oxígeno; en presencia de una cantidad de energía suficiente que le permita adquirir un electrón suplementario. Esta especie es producida por un gran número de enzimas, por reacciones de auto-oxidación y por transferencia no enzimática de  $e^-$ , provenientes de la reducción molecular univalente del oxígeno<sup>2</sup>. Es a la vez un anión y un radical<sup>14</sup>.

El radical ( $O_2^{\bullet-}$ ), se produce principalmente en la cadena de transportes de electrones mitocondrial, en el sitio de ubisemiquinona del complejo III<sup>19</sup>; debido a que una parte de los electrones que pasan por ella es captada por el  $O_2$ . Se ha estimado que una célula del cuerpo humano produce alrededor de unas  $10^{10}$  moléculas de anión Superóxido por día. Sin embargo; el 99 % de las moléculas que se producen se dismutan hacia peróxido de hidrógeno<sup>15</sup>. La concentración del radical ( $O_2^{\bullet-}$ ) en la célula; está en el intervalo de pico a nano molar, es tóxico para la célula en parte porque a partir de él se puede originar el ( $^1O_2$ ) oxígeno singlete y el ( $\bullet OH$ ) radical hidroxilo<sup>14</sup>.

El radical ( $O_2^{\bullet-}$ ) formado in vivo, se dismuta por la SOD con una constante de reacción rápida o también por vía no enzimática, en ( $H_2O_2$ ). Pero según *Fridovich, (1989)*. La reactividad del radical ( $O_2^{\bullet-}$ ), es débil; pero puede penetrar las membranas biológicas y causar daños a blancos específicos<sup>2</sup>.

La eliminación del radical ( $O_2^{\bullet-}$ ), se da a través de las enzimas SOD. En las células de mamíferos, hay una Cu/Zn SOD citosólica y otra extracelular más grande; y además una Mn SOD en las mitocondrias<sup>14</sup>. El radical ( $O_2^{\bullet-}$ ); puede actuar tanto como agente reductor, y como oxidante. Su papel en la generación de radicales hidroxilo ( $\bullet OH$ ), tiene importantes connotaciones biológicas.

La cantidad del radical ( $O_2^{\bullet-}$ ); generada por la mitocondria se incrementa cuando la tensión de oxígeno aumenta<sup>21</sup>. (1982), según *Turrens JF et al. En el (2002)* , Paradójicamente, *Waypa & Schumacker et al* también menciona que existe un aumento en la producción del radical ( $O_2^{\bullet-}$ ), por la mitocondria en condiciones de hipoxia <sup>22</sup>. Y en el (2001), Estudios anteriores de *Waypa GB, Chandel NS et al.*, han relacionado este aumento en la producción de radical ( $O_2^{\bullet-}$ ), las condiciones de hipoxia, con el factor inducible de hipoxia (HIF) <sup>19</sup>.

## 2.2 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es una consecuencia de la perturbación del equilibrio pro-oxidantes/antioxidantes, con un desplazamiento a favor de los primeros, término utilizado por primera vez desde 1985 definido así por el Prof. Helmut Sies (Universidad de Dusseldorf, Alemania); de tal modo, esta alteración da lugar a cambios en las biomoléculas y, de hecho, a modificaciones funcionales en los lugares donde las mismas se encuentren en un momento dado. En un esfuerzo por redefinir el término; el 2006 *Dean Jones*, lo propuso como: “una interrupción señalizada y control redox”<sup>23</sup>.

Dicha lesión oxidativa, cuando se produce en moléculas de gran importancia biológica como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos; puede conducir a graves consecuencias a corto y largo plazo<sup>24</sup>.

Todo esto trae como consecuencia alteraciones en la estructura y función en cualquier órgano, sistema o grupo celular; por lo tanto se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos.

El nivel de estrés oxidativo depende de la velocidad de generación de oxidantes y de los niveles de defensa antioxidante, los cuales están genéticamente controlados, pero están influenciados también por factores epigenéticos<sup>1</sup>.

### 2.2.1 Implicaciones del estrés oxidativo en el periodo perinatal

El cálculo de costo energético adicional medio en una gestación normal es de 80.000 Kcal para un período de 9 meses. Además el metabolismo basal aumenta en promedio un 15 %, a partir del quinto mes de embarazo esto en gran parte, debido al incremento hormonal. Este incremento metabólico junto al desarrollo fetal, conllevan mayor demanda de consumo de oxígeno y por tanto suponen una importante sobrecarga oxidativa. El consumo de O<sub>2</sub> en un embarazo es un 20% adicional a la época no gestante<sup>25</sup>.

Otro proceso de sobrecarga oxidativa para el neonato se da en el momento del nacimiento y su adaptación al medio extrauterino por la elevada exposición a O<sub>2</sub> ambiental, respecto al nivel intrauterino. Por todo ello, es la época perinatal la que supone mayor demanda de los sistemas de defensa antioxidante muchas veces limitado<sup>25</sup>.

En el ambiente intrauterino, la presión parcial de oxígeno (PaO<sub>2</sub>) es de 25-30 mmHg, relativamente hipóxico, que permite el crecimiento y la diferenciación fetal normales. La PaO<sub>2</sub> se elevará gradualmente hasta 80 a 90 mmHg, en los primeros minutos luego del pinzamiento del cordón umbilical, generando un estado de estrés oxidativo fisiológico y limitado, esto favorece al periodo de adaptación postnatal normal. Un exceso de oxígeno puede alterar el equilibrio pro-oxidantes/antioxidantes, generando daño en el neonato de término, pero mucho más importante en el pretérmino<sup>24</sup>.

El bajo peso al nacimiento y prematuridad, son consecuencias del desequilibrio hemodinámico generados por las ERO. Existen mecanismos reguladores en la placenta como parte normal de su crecimiento y la nutrición del trofoblasto, así como hiper vascularización en las vellosidades, angiogénesis, las angiopoyetinas y el importante factor HIF-1 alfa que activa genes de transcripción en respuesta a distintas concentraciones de oxígeno. El ambiente hipóxico, puede servir para proteger los tejidos fetales y los procesos de desarrollo frente a los efectos nocivos de las ERO, durante las fases críticas de la embriogénesis y organogénesis<sup>26</sup>. Los niños prematuros tienen un peso y una longitud apropiada para su edad gestacional, mayormente tienen bajo peso; pero existen los niños que nacen pequeños por retraso de crecimiento intrauterino (RCIU), por una mala conformación o flujo placentario, y mayormente presentan bajo peso al momento del nacimiento<sup>27</sup>.

En el (2008), según *Hracsko Z et al.* Demostró que la actividad antioxidante en neonatos con RCIU, con peso menor, para el percentil 10, para la edad gestacional, tienen deficiencias significativas respecto a un grupo control de neonatos con peso normal, por lo que el RCIU se correlaciona con el estrés oxidativo de manera significativa<sup>28</sup>.

Existe una gran actividad metabólica, aumento de la actividad mitocondrial placentaria durante la gestación normal aumentando el estrés oxidativo una de estas especies reactivas producidas por el trofoblasto es el radical Superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ )<sup>2</sup>.

En (1988). El autor *Cañas Patricio D et al.* , evaluó la actividad del sistema defensa antioxidante y la agresión oxidativa, en 3 grupos de gestantes, de diferentes edades gestacionales y neonatos todos con bajo peso, determinando que hubo mayor agresión oxidativa en los neonatos pretérmino que los de término<sup>29</sup>.

El estrés oxidativo se inserta en este contexto como un factor de riesgo potencial. Recientemente, se ha evidenciado que los niveles fisiológicos de ERO inducen la expresión de varios factores de transcripción celular, a través de la activación de múltiples vías de transducción de señales. Por el contrario, altos niveles de ERO son notoriamente perjudiciales para la supervivencia y las funciones celulares tales como expresión de genes claves para la ganancia de peso fetal, provocar disfunción endotelial, y de esta forma comprometer la estabilidad y función útero-placentaria<sup>11, 26</sup>. Podría asumirse que la incompleta maduración de los sistemas de defensa antioxidantes contra la agresión de las ERO; guardan estrecha relación con las alteraciones que ocurren durante la etapa temprana del desarrollo humano<sup>12</sup>.

## **Patologías relacionadas a radicales libres en neonatología**

Diversas patologías asociadas al periodo neonatal reconocen como mecanismo patogénico subyacente al estrés oxidativo y a alteraciones en la adecuada maduración de los niveles de sistemas antioxidantes. El recién nacido prematuro puede ser más susceptible al daño por radicales libres y sus ERO, por la falta de concentraciones adecuadas de antioxidantes en el momento del nacimiento<sup>30</sup>.

Algunas de las alteraciones en la placenta que trae como consecuencia el retraso del crecimiento intrauterino RCIU y la pre-eclampsia se asocian con hipoxia y estrés oxidativo y tienen repercusiones en el desarrollo del fetal y vida extrauterina<sup>12</sup>.

Además, en el recién nacido hay condiciones que incrementan su susceptibilidad al daño pulmonar, convirtiendo a este, en un órgano crítico en este proceso de adaptación a la vida extrauterina, sobre todo teniendo en cuenta que la maduración pulmonar continúa durante la etapa posnatal. Se sabe que tienen una mayor resistencia a la toxicidad por el oxígeno, en los recién nacidos, posiblemente relacionado con su capacidad para aumentar la concentración de las enzimas antioxidantes<sup>31</sup>.

Algunas otras enfermedades neonatales relacionadas con los radicales libres; son la retinopatía, displasia broncopulmonar, persistencia del ductus arterial, hipertensión arterial persistente, enterocolitis

necrotizante, hemorragia intraventricular, Fenilcetonuria, encefalopatía Hipóxico isquémica entre otras<sup>30, 32</sup>.

La retinopatía del prematuro es un desorden de la maduración vascular y específico de la retina, ocasionado por los radicales libres<sup>14</sup>.

La fibroplasia retrolental, solo se dan en niños de muy bajo peso al nacer cuyos vasos retinianos no han completado su desarrollo centrifugo a partir del disco óptico<sup>14</sup>.

En la etapa fetal existirá una mayor probabilidad de afectación del peso ante la exposición de la gestación a diversos factores. Una evidencia en la práctica clínica que apoya lo anterior es que en el RCIU asimétrico, trastorno del crecimiento fetal más frecuente (alrededor del 80 %) y que aparece en el tercer trimestre, el componente del crecimiento más afectado es el peso fetal. Varios reportes indican que el estrés oxidativo está envuelto en los defectos del desarrollo y del retardo del crecimiento del embrión<sup>7, 12, 27</sup>.

Y si la hipoxia es fuente de estrés oxidativo, también lo es la exposición a niveles elevados de oxígeno por necesidades terapéuticas o a elevadas concentraciones de hierro no unido a proteínas<sup>25</sup>.

Por otro lado tras el nacimiento los puntajes APGAR son de (0 a 10) se realizan al primer y quinto minuto, donde se determinan 5 parámetros como, color de piel, esfuerzo respiratorio, frecuencia cardíaca, tono y actividad muscular con valores de 0, 1 o 2 puntos a cada uno, este permite evaluar los sistemas cardiopulmonar y neurológico en el recién nacido<sup>30</sup>.

El puntaje APGAR al minuto, evalúa en el recién nacido, el nivel de tolerancia al proceso del nacimiento.

El puntaje APGAR al quinto minuto, evalúa en el recién nacido, el nivel de adaptabilidad al medio ambiente<sup>30</sup>. En general un puntaje sea al minuto o a los 5 minutos, si es de 0 a 3 se describiría como severamente deprimido, de 4 a 6 moderadamente deprimido y de 7 a más se considera un puntaje normal.

### **2.3 Peso en el Neonato.**

La medición del peso corporal es la determinación antropométrica más significativa del periodo neonatal. El peso al nacer, es considerado como uno de los determinantes del buen crecimiento y desarrollo del niño<sup>33</sup>; se expresa en gramos, el 95% de peso en el feto se adquiere en las últimas 20 semanas de gestación, tercer trimestre <sup>7</sup>. Los determinantes del peso fetal son el potencial genético, el ambiente materno y la función útero placentaria. Asimismo, como uno de los factores que actúa en su estado nutricional y está estrechamente asociado a la morbilidad y mortalidad, sobre todo en el primer año de vida<sup>7, 13</sup>.

Según la OMS; Se considera un recién nacido con sobrepeso o macrosómico cuando pesa  $\geq 4000\text{g}$ , con un peso normal entre 2500 y 3999 g, con bajo peso al nacer cuando el recién nacido pesa entre  $<2500\text{g}$  <sup>4, 33,34</sup>.

Esta medición se debe realizar al momento del nacimiento dentro de las primeras horas, por lo general los prematuros presentan bajo peso al nacer,

sin embargo hay bajo peso en algunos neonatos a término y es debido a RCIU<sup>34</sup>.

Además la actividad de varios sistemas de defensa antioxidantes se ha visto incrementada hacia el tercer trimestre, período crítico de la ganancia de peso fetal, sugiere la existencia de mecanismos homeostáticos maternos y placentarios, destinados en parte a proteger el peso fetal de las acciones perjudiciales de las ERO y otros pro-oxidantes<sup>7, 33</sup>.

Un adecuado sistema antioxidante placentario materno; garantiza una adecuada ganancia de peso fetal. Se estima que el 60% de la variación de peso al nacimiento es resultado de influencias del medio ambiente intrauterino; por otro lado se puede distinguir tres tipos de influencia genética sobre el crecimiento fetal, la de los genes placentarios, la de los genes parentales y la de los genes fetales<sup>34</sup>.

## 2.4 Edad Gestacional.

Se podría definir como semanas de vida intrauterina cumplidas al momento del parto. El mejor método para calcular la edad gestacional por parte de las gestantes es a partir de la fecha de su última menstruación, pero ya que este dato muchas veces no es exacto, se recurre al protocolo de control de procesos reproductivos que incluye otros métodos como la ecografía, medición de la circunferencia cefálica y abdominal, del diámetro biparietal, y la longitud femoral son los más utilizados.<sup>34</sup>

Clasificación de neonatos según las semanas de gestación en:

- a) Recién nacidos pre término; con 37 semanas o menos.
- b) Recién nacidos de término; los nacidos entre las semanas 38 y 41.
- c) Recién nacidos post término, con 42 semanas o más.<sup>34</sup>

El bajo peso fetal es, en general, un reflejo de la restricción en el crecimiento intrauterino; condición que desemboca en una mayor incidencia de complicaciones perinatales, tales como alteraciones en el desarrollo neurológico, pulmonar y hepático<sup>35</sup>.

## **2.5 Genero**

Se podría definir como condición en este caso neonatal, que distingue entre masculino y femenino.

Se realizó un estudio en poblaciones adultas peruanas donde existió diferencias en el nivel de la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa según el género, siendo ligeramente mayor en el femenino respecto al masculino.<sup>1</sup>

## **2.6 Sistemas fisiológicos antioxidantes:**

Un antioxidante está definido como, molécula que tiene la capacidad de evitar la oxidación de otra molécula, ya sea por interacción y estabilización de especies reactivas, o por la estabilidad y reducción de su reactividad mediante transformaciones configuracionales, permitiendo la homeostasis fisiológica de estas especies reactivas de oxígeno, manteniéndolas por debajo de su umbral citotóxico<sup>12</sup>.

En la hipoxia fisiológica del medio intrauterino en los primeros meses; el embrión es protegido potencialmente por la existencia de mecanismos de defensa antioxidante internos y externos. En los primeros están principalmente las enzimas antioxidantes como la Superóxido Dismutasa, Glutación Peroxidasa y Glutamincistina Gamasintasa. Las transcripciones que codifican para estas enzimas antioxidantes se han encontrado en el ovocito,

embrión y el oviducto, y su expresión parece esencial para el desarrollo del embrión. Entre los mecanismos externos de defensa antioxidante no enzimática; se encuentra la taurina, hipotaurina, y el ácido ascórbico en el tejido folicular y trompas<sup>26, 36</sup>.

Al final del primer trimestre, la tensión de O<sub>2</sub> aumenta súbitamente produciéndose en las células del trofoblasto, los ARNm de las enzimas antioxidantes que podría ser inducida por NADPH oxidasas, estimulado por la hipoxia en sí, que conduce a la producción del radical (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>) intracelular. Posteriormente se regula esta producción en la expresión de enzimas antioxidantes<sup>26</sup>.

Diversos estudios muestran un incremento gradual de estos sistemas de defensa a medida que avanza la gestación, principalmente hacia el tercer trimestre, posiblemente como un mecanismo de respuesta adaptativa al estrés oxidativo originado durante el embarazo normal<sup>7</sup>.

### **2.6.1 Superóxido Dismutasa (SOD) (E.C. 1.15.1.1)**

La SOD fue la primera enzima de la cual se conoció, que actuaba sobre un radical libre; su descubrimiento en 1968 por *McCord* y *Fridovich*, constituyó una prueba de la existencia de estos radicales en los organismos vivos. Su distribución es amplia en el organismo. Esta enzima se encarga de la reacción de dismutación del radical anión Superóxido intracelular (O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>)<sup>14-16</sup>.

La enzima pertenece al grupo de las oxidorreductasas, familia de las metaloenzimas, presente en todas las células que utilizan al oxígeno en su metabolismo, catalizan la conversión del radical Superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) en ( $H_2O_2$ ) y oxígeno molecular ( $O_2$ ); siendo el primer medio natural de defensa<sup>15</sup>.

El ( $H_2O_2$ ) generado por la reacción, es eliminado por la CAT y/o la GPx. La constante de velocidad de la reacción de dismutación es de aproximadamente ( $2 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ )<sup>12, 17</sup>.

Se conocen 3 formas de SODs según el grupo prostético y el metal que utilizan como cofactor. La forma isoenzimática prevalente de las SOD es la Cu/Zn SOD, una proteína dimerica de 32KD que se ha encontrado en casi todas las células eucariotas, siendo el átomo de cobre esencial para su actividad catalítica, mientras que el átomo de Zn le confiere estabilidad. Protege al hematíe contra las ERO, de formar metahemoglobina. Se ha encontrado otra Cu/Zn SOD; en los fluidos extracelulares, proteína que pesa 135KD. La tercera isoforma es la Mn SOD; que contiene manganeso, proteína tetramérica que pesa 88KD, localizada en la mitocondria, protege a este orgánulo de los radicales ( $O_2^{\bullet-}$ ), producido durante el transporte de electrones<sup>5, 20</sup>.

El gen que codifica a esta enzima, se encuentra ubicado en el cromosoma 21, específicamente en el segmento extra (21q22.1) que aparece en el síndrome de Down, de ahí que los niveles de SOD se

encuentren elevados en la generalidad de estos pacientes; un 50% más de actividad por la copia extra del gen<sup>17, 37</sup>.

## **2.7. Antecedentes de la investigación**

### **2.7.1. Antecedentes Internacionales**

**Determinación De La Actividad De Superóxido Dismutasa En Poblaciones Humanas Normales Y Patológicas**<sup>17</sup>. (1994); *Rosario de la Torre Binimelis*. Sostiene en su Tesis que la media de actividad de Superóxido Dismutasa en la población adulta sana española no fue significativamente diferente en ambos géneros. En la población adulta rural española y la población adulta urbana española, encontró una actividad 10% inferior en la primera. En la población infantil y adolescente sana española la actividad de SOD, asciende en el 1er año de vida, comparándola con la que tuvo en el momento del nacimiento y luego declina progresivamente hasta alcanzar los niveles de actividad de SOD del adulto entre los 15 y los 18 años.

**Valoración de la respuesta neonatal ante el estrés oxidativo.** (2005); *Contreras Chova Francisco*. Aporta en su tesis que en los recién nacidos pretérmino se presenta un mayor grado de estrés oxidativo en relación al recién nacido a término. Afirmando que su actividad enzimática antioxidante se relaciona con la ontogenia y maduración de los sistemas antioxidantes durante la gestación y el periodo neonatal

inmediato. Solo de esta manera se puede explicar que la actividad de la CAT y la SOD es mayor en los recién nacidos a término mientras que la GPX ofrezca un nivel de actividad superior en el recién nacido pretérmino. Respecto al grado de estrés, el recién nacido pretérmino presenta mayor presencia de hidroperóxidos que el recién nacido a término, fenómeno relacionado con prematuridad. Determinadas situaciones inherentes al periodo perinatal pueden actuar como factores sinérgicos a la propia inmadurez del recién nacido pretérmino como causantes o agravantes de un mayor nivel de estrés oxidativo.

**Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction<sup>38</sup>.** (2007); *Biri A and Cols.* In this study the role of oxidative stress was evaluated in intrauterine growth restriction, by parameters of oxidative and antioxidant system in maternal plasma, cord blood and placental tissue of pregnant women carrying fetuses with intrauterine growth retardation compared with normal control group; where he met; an increased superoxide dismutase activity in maternal plasma (128.2 +/- 37.4 vs. 88.8 +/- 16.6 U/ml,  $p < 0.005$ ) and cord blood (162.1 +/- 37.0 vs. 116.6 +/- 20.7 U/ml,  $p < 0.005$ ) and an increase in glutathione peroxidase activity in maternal plasma and placental tissue, while the catalase activity decreased in cord blood and placental tissue found

**Papel del estrés oxidativo en la restricción del crecimiento intrauterino.** En este estudio se evaluó el papel del estrés oxidativo en la restricción del crecimiento intrauterino, mediante parámetros del sistema oxidativo y antioxidante en el plasma materno, sangre del cordón umbilical y tejido de la placenta de las mujeres embarazadas con fetos con retraso en el crecimiento intrauterino, frente a un grupo control normal; donde se encontró un aumento de la actividad Superóxido Dismutasa en el plasma materno ( 128,2 +/- 37,4 vs. 88,8 +/- 16,6 U / ml ,  $p < 0,005$  ) y sangre de cordón ( 162,1 +/- 37,0 vs. 116,6 +/- 20,7 U / ml ,  $p < 0,005$  ) y un aumento de la actividad Peroxidasa de Glutación en el plasma materno y el tejido de la placenta, mientras que la actividad de Catalasa se encontró disminución de en la sangre del cordón y el tejido de la placenta

**Evaluation of oxidative stress markers in neonates with intra-uterine growth retardation<sup>28</sup>.** (2008); *Hracsko Z and Cols.* In this study the relationship of newborns with intrauterine growth retardation and antioxidant defense system, finding specifically that the activity of superoxide dismutase was significantly lower in infants with IUGR compared to normal control group was evaluated . IUGR neonates appear to have significant deficiencies in their antioxidant defense. The restriction intrauterine growth correlates with significant oxidative stress.

**Evaluación de marcadores de estrés oxidativo en los recién nacidos con retraso en el crecimiento intrauterino.** En este estudio se evaluó la relación de los recién nacidos con retraso en el crecimiento intrauterino y su sistema de defensa antioxidante, encontrándose específicamente que la actividad de la Superóxido Dismutasa fue significativamente inferior en los neonatos con RCIU a comparación del grupo control normal. Los neonatos con RCIU parecen tener deficiencias significativas en su defensa antioxidante. La restricción en el crecimiento intrauterino se correlaciona con el estrés oxidativo significativo.

#### **2.7.2 Antecedentes nacionales:**

**Enzimas antioxidantes eritrocitarias en sujetos de altura<sup>16</sup>.** (2005); *Adriazola Jokada Marco Antonio y cols.* Sostiene en su tesis que; la determinación de los niveles de las enzimas antioxidantes, en eritrocitos de personas residentes en Cerro de Pasco (4340 m.s.n.m) aparentemente sanas; y en pobladores de Lima (150 m.s.n.m); no encontrando diferencia estadísticamente significativa para SOD; pero si para otras enzimas como la CAT y el producto MDA, fueron menores en los sujetos de altura; que los obtenidos a nivel del mar.

**Evaluación del efecto antioxidante del ejercicio moderado y continuo en individuos con entrenamiento físico regular<sup>18</sup>.** (2010); *Cabrera García Carlos y cols.* Sostienen en su tesis que hay diferencias en la actividad enzimática de la SOD; en los tres grupos

estudiados, encontrando que la mayor actividad de SOD la tubo el grupo de ejercicio moderado y continuo, sobre el grupo normal y este a su vez mayor concluyendo que este resultado es debido a que a mayor estrés como en el caso de ejercicio intenso y discontinuo; resulta una menor actividad enzimática, y que en el caso del ejercicio moderado pero continuo; presenta mayor actividad enzimática como respuesta adaptativa al ejercicio.

**Perfil enzimático antioxidante en habitantes de Nueva Cajamarca – Región San Martín<sup>15</sup>.** (2011); *Ahumada Obed y cols.* Sostienen que existen mayores niveles de actividad SOD, CAT y MDA; en estos pobladores de la Selva; comparándolos con los de Lima. Demostrando que en la disminución de la actividad enzimática de la SOD; es consecuencia del alto nivel de peróxido de hidrogeno producido durante la reacción. Inicialmente aumenta la SOD; por la alta producción del anión Superóxido, pero al ser esta prolongada; termina agotando la estimulación de la actividad enzimática, ya que el producto de la reacción, el peróxido de hidrogeno, termina inhibiéndola por retroalimentación negativa.

**En su tesis titulada: Indicadores de estrés oxidativo en eritrocitos de una población de Huaraz<sup>39</sup>.** (2013); *Coz J. et al.* sostiene en su tesis; que cuando los seres humanos están sometidos a una menos

cantidad de oxígeno como ocurre en Huaraz; a (3050 m.s.n.m), el organismo intenta regular las acciones tóxicas de las especies reactivas de oxígeno, mediante su sistemas antioxidantes; encontrando que la actividad enzimática de la SOD; a mediana altura fue estadísticamente significativa, siendo mayor que en los sujetos de Lima, con un ( $p < 0,05$ ) y otras enzimas como: CAT, GPx y MDA; tuvieron menor diferencia estadísticamente significativa que la SOD.

## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. Diseño del Estudio:**

**Descriptivo- Transversal**

### **3.2. Población y muestra:**

#### **Población:**

Recién nacidos vivos del Área de sala de partos del Hospital II Lima Norte, Luis Negreiros Vega. Ingresados durante los meses de Setiembre y Octubre del 2016. La población total fue de 250 neonatos.

#### **Muestra:**

La muestra está conformada por sangre venosa del cordón umbilical de 70 neonatos en el momento del nacimiento tomadas en Sala de Partos del Hospital II Lima Norte, Luis Negreiros Vega, obtenida a través de un muestreo no probabilístico a criterio del autor.

#### **3.2.1. Criterios de Inclusión:**

- a) Neonatos nacidos vivos entre las 33 y 41 semanas de gestación.
- b) Neonatos con pesos comprendidos entre 1500 – 4500 g.

### **3.2.2. Criterios de Exclusión:**

- a) Neonatos cuyas madres han llevado suplemento antioxidante durante el embarazo o padezcan de diabetes gestacional.
  
- b) Neonatos de gestación múltiple, nacidos con malformaciones congénitas, síndromes cromosómicos, infección, incompatibilidad sanguínea u otras complicaciones como preeclampsia y circular de cordón.
  
- c) Neonatos cuyas muestras de sangre no cumplan con los requerimientos para su recolección y posterior dosaje (cantidad insuficiente, coaguladas no rotuladas) o cuyas madres no aceptan participar en el estudio.

### 3.3. Operacionalización de Variables:

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de Variable	Indicador	Escala de valor	Instrumento	Ítem
Actividad Enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa	La SOD esta enzima se encarga de la reacción de dismutación del radical anión Superóxido intracelular (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ). La medición de la actividad de esta enzima da cuenta del estado del sistema de defensa antioxidante.	Se utilizara un espectrofotómetro para las mediciones y finalmente se calculara la cantidad de actividad enzimática por cada gramo de hemoglobina que tenga la muestra.	V.CUANTITATIVA continua	Unidades internacionales por gramos de hemoglobina U/gr Hb	De Razón	Medición espectrofotométrica/fotolorimétrica y ficha de recolección de datos	1, 2
Edad Gestacional	Se define como semanas de vida intrauterina cumplidas al momento del parto.	Se calculara a partir de la fecha de su última menstruación. Por ecografía. Por medición de la circunferencia cefálica y abdominal.	V. CUANTITATIVA discreta	RN pre término: < 37 semanas. RN a término: entre 38 a 41 semanas. RN post-término: con > 41 semanas.	Razón o proporción	Ficha de recolección de datos	3, 4
Peso	Es la determinación antropométrica más significativa, determina el buen crecimiento y desarrollo del niño y se expresa en gramos.	La medición se realizara inmediatamente después del parto, luego de cortar el cordón umbilical. Se usar una balanza graduada en gramos.	V. CUANTITATIVA continua	RN macrosómico: ≥ 4000g. RN peso normal: entre 2500 a 3999 g RN con bajo peso: < 2.500g.	De intervalo	Ficha de recolección de datos	5
Género	Condición de un organismo que distingue entre masculino y femenino.	Femenino: género gramatical; propio de la mujer. Masculino: género gramatical, propio del hombre.	V. CUALITATIVA categórica dicotómica	Masculino Femenino	nominal	Ficha de recolección de datos	6

## **3.4 Procedimientos y técnicas**

### **Parte Experimental**

#### **3.4.1 Datos de la madre y el Neonato**

La información se obtuvo mediante una ficha de recolección de datos llenada por el investigador, donde se hizo registro de datos como la edad gestacional de la madre, peso neonatal al momento del nacimiento, sexo, donde se usó los criterios de exclusión que pudieran alterar la actividad enzimática antioxidante, como suplemento antioxidante durante el embarazo, gestación múltiple, nacimientos con malformaciones congénitas, síndromes cromosómicos, síndrome de Down, complicaciones como preeclampsia, circular de cordón, diabetes gestacional, infección o incompatibilidad sanguínea u otras complicaciones .

#### **3.4.2 Obtención de la muestra:**

- a) La muestra de sangre; fue tomada a partir del cordón umbilical, de la vena umbilical. en el momento del nacimiento por personal debidamente capacitado. Previo consentimiento informado.
  
- b) Se tomó 3ml de sangre de cordón umbilical por paciente usando tubos con EDTA K3, (etilendiaminotetraacetico tripotasico) como

anticoagulante, e inmediatamente homogenizado por inversión para evitar la formación de coágulos,

- c) Se alícuota una cantidad de sangre de cordón umbilical, previamente homogenizada, para la determinación inmediata de la hemoglobina por el método de Drabkin.
- d) Luego se procedió a la crio preservación inmediata del resto de la muestra, hasta el momento de la medición enzimática a una temperatura de 4 °C

### **3.4.3 Determinación de la actividad de la Superóxido Dismutasa**

Para determinar la actividad de la SOD, se utilizara el descrito por *Marklund y Marklund*<sup>40</sup> en (1974), en el que la generación del radical Superóxido está producida por la auto oxidación del pirogalol o acido pirogálico en soluciones aeróbicas (que es un agente reductor muy activo en soluciones alcalinas), el cual es catalizado por el radical Superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), dando lugar a la purpurogalina, compuesto amarillo marrón que absorbe la luz a 420 nm y resulta inhibido por la enzima SOD.

El grado de inhibición permite evaluar la cantidad de enzima presente en la muestra.

Se considera como una unidad de actividad de SOD, a la cantidad de enzima que inhibe en un 50%, la reacción de autoxidación del pirogalol

a 30°C y a un PH de 8,2. Esta inhibición se mide frente a un control en el que no existe SOD.

Para mayor exactitud en la medición de la actividad enzimática de la SOD, los resultados se expresarán en unidades por gramo de hemoglobina, (U/gr Hb), por lo que se dosará la hemoglobina por el método de Drabkin<sup>41</sup>.

## **Equipos Y Materiales**

### **Equipos**

Analizador bioquímico Fotocolorímetro semiautomatizado Dialab

Centrifuga Thermo Scientific

Balanza analítica Sartorius (Sensibilidad 0.0001 g)

Baño María Gemmyco

### **Materiales**

Tubos de 10 x 75mm

Cronometro

Pipetas y Micropipetas

Gradillas

Matraces

### **Reactivos:**

Se preparan las siguientes soluciones:

- a) Buffer tris HCL 50 mM PH 8,2 con 1mM DPTA (diethylene triamine pentaacetic acid)
- b) Pirogalol 2mM disuelto en HCL, 10 mM.

**Procedimiento:**

Se alicuotará 0,050 mL de sangre de cordón umbilical, previamente homogenizada para la determinación inmediata de la hemoglobina por el método de Drabkin.

Cambio de absorbancia en la autoxidación del pirogalol:

- a) Buffer Tris HCL 50 mM pH 8.2 → 0.096 mL
- b) Se coloca a baño María de 30°C por espacio de 1 min.
- c) Se añade 0.040mL de pirogalol y se lee el cambio de absorbancia a una  $\lambda$  de 405 nm, durante 3 min.
- d) La grafica debe tener una  $\Delta A/ \text{min}$  de  $(0.020 \pm 10\%)$  en la parte lineal. este dato es el que se tomara como referencia para determinar la autoxidación del pirogalol y hallar la unidad SOD.

	BUFFER	PIROGALOL
BUFFER	0.096 mL	--
PIROGALOL	--	0.040 mL

Inhibición del cambio de absorbancia:

- a) Buffer Tris HCL 50 mM pH 8.2 → 0.092 mL
- b) Muestra problema → 0.040 mL

- c) Se coloca a baño María de 30°C por espacio de 1min.
- d) Se añade 0.040 mL de pirogalol y se lee el cambio de absorbancia a una  $\lambda$  de 420nm, durante 3 min.
- e) El cambio de absorbancia de la muestra problema, debe ser de  $(0.01 \pm 10\%)$ ,\* si en caso fuera necesario, debe diluirse la muestra.

	BUFFER	MUESTRA	PIROGALOL
BUFFER	0.092 mL		
MUESTRA	--	0.040 mL	
PIROGALOL	--	--	0.040 mL

### Calculo de la actividad de SOD

Definición de una UNIDAD SOD (USOD): una unidad corresponde a la mitad del cambio de absorbancia por minuto, de pirogalol.

Teóricamente 1USOD  $\rightarrow$  0.01

USOD total= definición de USOD x vol. celda

$\Delta$  Amp/min x vol.Mp

\* Si se diluye la muestra, añadir el factor de dilución.

#### **3.4.4 Determinación de Hemoglobina por el Método de Drabkin:**

Para la determinación de la hemoglobina en sangre de cordón umbilical se utilizó el método de la cianometahemoglobina (hemiglobincianuro; HiCN), que consiste en diluir la sangre de cordón umbilical, en el reactivo de Drabkin (ferrocianuro potásico y cianuro potásico). El ferrocianuro potásico del reactivo oxida las hemoglobinas, y el cianuro potásico proporciona los iones cianuro (CN<sup>-</sup>), para de esta forma formar hemiglobincianuro (HiCN, cianometahemoglobina), que tiene una absorbancia máxima amplia a una  $\lambda$  de 540 nm. Siendo la capacidad de absorción de la solución la que se mide en un fotómetro y se compara con el valor obtenido de la curva de calibración realizada con hemoglobina pura y el reactivo de Drabkin<sup>41</sup>.

En estudios previos de la determinación de Hemoglobina en neonatos de Lima en sangre de cordón umbilical se encontró que la concentración de hemoglobina fue de  $17.5 \pm 1.04$  g/dl y la de Hematocrito de  $52.63 \pm 3.15\%$ <sup>42</sup>.

### **3.5. Plan de Análisis de Datos**

La información se obtuvo mediante una ficha de recolección de datos, donde están incluidas las variables secundarias como edad gestacional, peso neonatal y sexo.

Los datos fueron analizados mediante el programa estadístico SPSS versión 23 para Windows 8. El análisis descriptivo incluye el cálculo de la media y la desviación estándar para las variables cuantitativas, mientras que las variables cualitativas están reportadas, mediante tablas y gráficos, como frecuencias y porcentajes. Asimismo, se realizó una prueba T de Student para establecer diferencias significativas entre la actividad SOD y las variables cuantitativas, considerando significativo los valores de  $p < 0,05$ .

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

### 4.1. RESULTADOS

Del estudio de la actividad enzimática antioxidante eritrocitaria de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical de neonatos nacidos en el Hospital Lima norte II – “Luis Negreiros vega”; se obtuvieron los siguientes resultados:

#### RECIEN NACIDOS Y LAS VARIABLES DE ESTUDIO

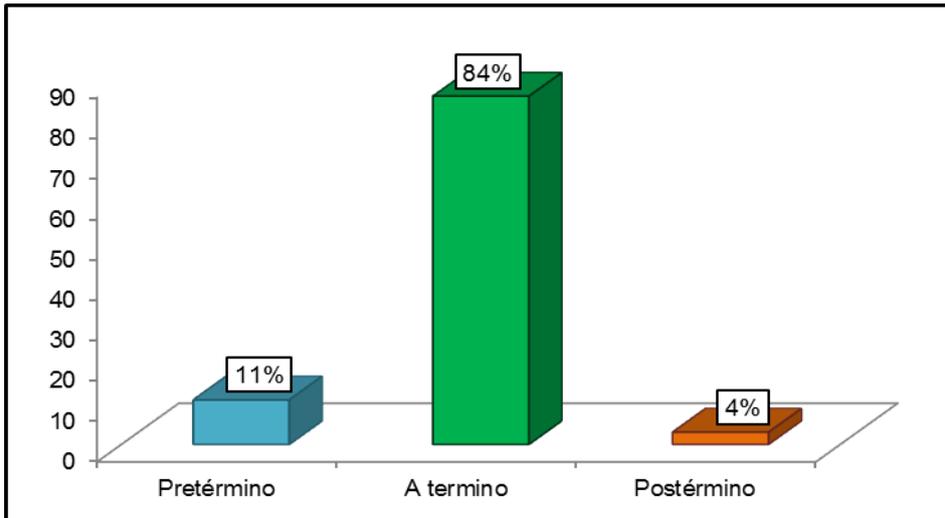
##### Clasificación de los recién nacidos de acuerdo a la edad gestacional

**Tabla N° 1:** Clasificación del recién nacido de acuerdo a su edad gestacional

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Pretérmino	8	11,4%	11,4%
A término	59	84,3%	95,7%
Postérmino	3	4,3%	100,0%
Total	70	100,0%	

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 1 Presenta la clasificación de los recién nacidos según la edad gestacional. 8 neonatos se clasificaron como pretérmino; 59 neonatos se clasificaron como a término y 3 neonatos como postérmino. Se observa que la mayor parte de los neonatos nació entre las 38 y 41 semanas de gestación lo que los clasifico como a término.



**Gráfico N° 1:** Porcentaje de frecuencia de la clasificación de recién nacidos según la edad gestacional

Los porcentajes correspondientes se muestran en el gráfico N° 1.

### Clasificación de los recién nacidos de acuerdo al peso

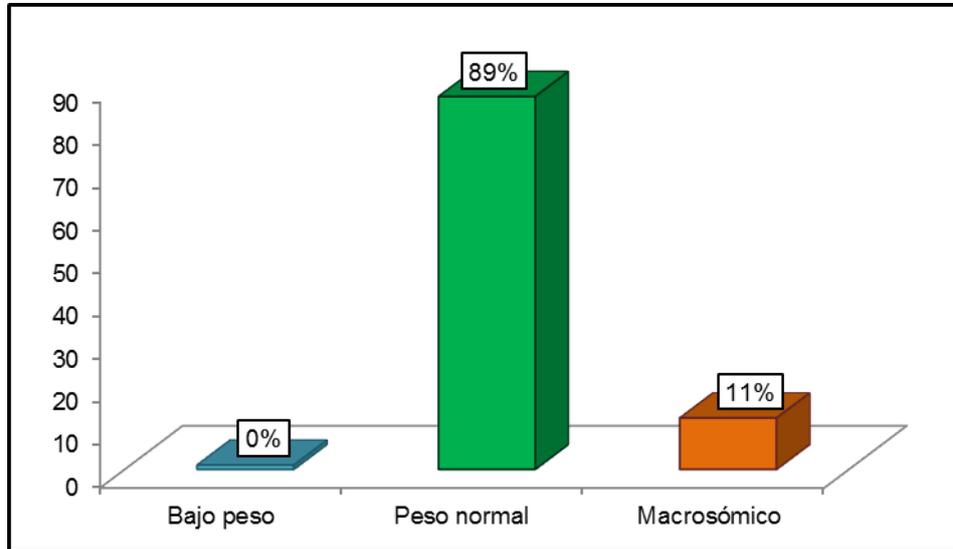
**Tabla N° 2:** Clasificación del recién nacido de acuerdo a su peso

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Bajo peso	0	0,0%	0,0%
Peso normal	62	88,6%	88,6%
Macrosómico	8	11,4%	100,0%
Total	70	100,0%	

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 2 Presenta la clasificación de los recién nacidos según el peso que tuvieron post parto. Ninguno de los recién nacidos tuvo un bajo peso; 62 de los

recién nacidos se encontraban con un peso normal y 8 neonatos nacieron macrosómicos.



**Gráfico N° 2:** Porcentaje de frecuencia de la clasificación del recién nacido según peso

La mayor parte de los recién nacidos tuvieron un peso normal. Los porcentajes correspondientes se muestran en el gráfico N° 2.

### Datos sobre peso y talla en los recién nacidos

**Tabla N° 3:** Peso y talla en los recién nacidos

	Peso (gr)	Talla (cm)
Media	3471,64	49,41
Desviación estándar	± 410,32	± 2,42
Mínimo (a)	2350	38
Máximo (a)	4370	54

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3. Muestra, lo datos de peso y talla de los 70 recién nacidos en Hospital II Lima Norte – “Luis Negreiros Vega”, con peso promedio de 3472 gr, con una desviación estándar  $\pm 410$  gr, un peso mínimo de 2350 gr. y un máximo de 4370gr. Asimismo, presentaron una talla promedio de 49 cm, con una desviación estándar de 2 cm, una talla mínima de 38 cm y una máxima de 54 cm.

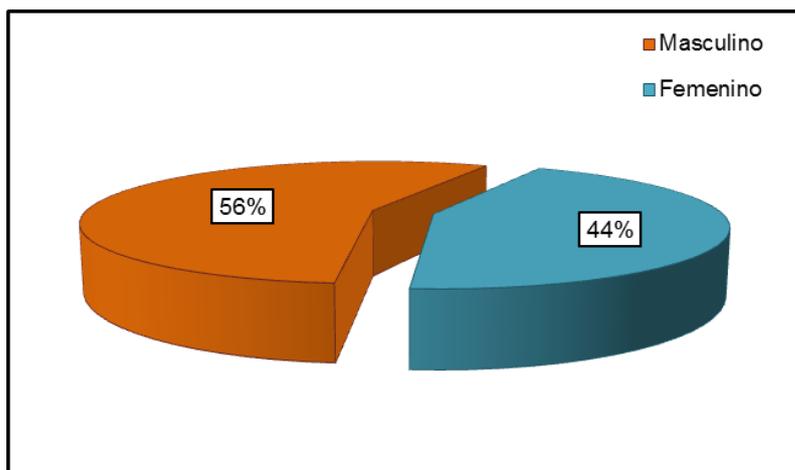
### Clasificación del recién nacido de acuerdo al sexo

**Tabla N° 4: Clasificación del recién nacido de acuerdo a su sexo**

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
Masculino	39	55,7%	55,7%
Femenino	31	44,3%	100,0%
Total	70	100,0%	

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 4. Presenta la distribución de los recién nacidos de acuerdo al sexo. 39 de los neonatos nacieron con sexo masculino; mientras que 31 con sexo femenino. La mayor parte de la muestra fue del sexo Masculino.



**Gráfico N° 3:** Porcentaje de distribución de los recién nacidos según sexo.

Los porcentajes correspondientes se muestran en el gráfico N° 3.

### **Concentración de hemoglobina en sangre de cordón umbilical**

**Tabla N° 5:** Concentración de hemoglobina en sangre de cordón umbilical

Hemoglobina	gr/dl
Media	15,37
Desviación estándar	± 1,8
Hb mínima	9,6
Hb máxima	20,5

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 5 Presenta la concentración de hemoglobina promedio en sangre de cordón umbilical de los 70 neonatos, que fueron atendidos en Hospital II Lima Norte – “Luis Negreiros Vega”. Los neonatos presentaron una concentración de hemoglobina promedio de 15,37 gr/dl, con una desviación estándar de ± 1,8 gr/dl, una Hb mínima de 9,6 gr/dl y una Hb máxima de 20,5 gr/dl.

## ACTIVIDAD SOD Y VARIABLES DE ESTUDIO

### Determinación de la Actividad enzimática antioxidante de la Superóxido

### Dismutasa (SOD) en sangre de cordón umbilical

**Tabla N° 6:** Actividad SOD en sangre de cordón umbilical

	USOD/g Hb
Media	3781,03
Desviación estándar	± 865,84
SOD mínima	1925,76
SOD máxima	6872,08

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 6 Presenta la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa (SOD) en sangre de cordón umbilical de los recién nacidos en el Hospital Lima-Norte II "Luis Negreiros Vega". La muestra presentó una actividad SOD promedio de 3781,03 USOD/g Hb, con una desviación estándar de ± 865,84 USOD/g Hb, una mínima de 1925,76 USOD/g Hb y una máxima de 6872,08 USOD/g Hb.

## Determinación de la Actividad (SOD) en sangre de cordón umbilical según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo a la edad gestacional

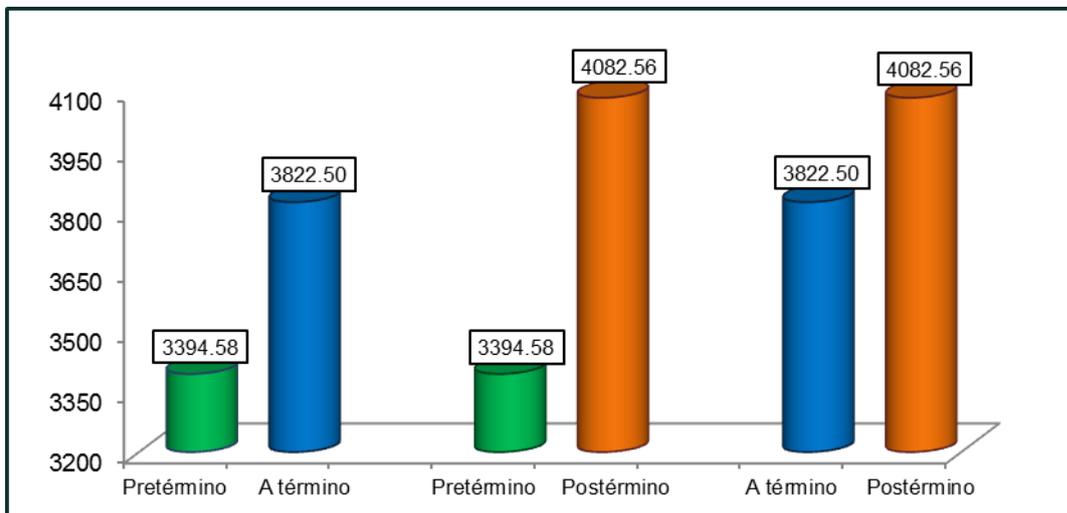
**Tabla N° 7:** Actividad SOD según clasificación de los recién nacidos de acuerdo a la edad gestacional.

	Pretérmino	A término	Prueba T	p-valor
Muestra	8	59		
Media	3394,58 USOD/g Hb	3822,50 USOD/g Hb	-1,212	0,238
Desviación estándar	± 460,61	± 906,05		
	Pretérmino	Postérmino	Prueba T	p-valor
Muestra	8	3		
Media	3394,58 USOD/g Hb	4082,56 USOD/g Hb	-1,828	0,105
Desviación estándar	± 460,61	± 573,23		
	A término	Postérmino	Prueba T	p-valor
Muestra	59	3		
Media	3822,50 USOD/g Hb	4082,56 USOD/g Hb	-0,401	0,690
Desviación estándar	± 906,05	± 573,23		

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 7 Presenta Determinación de la Actividad (SOD) en sangre de cordón umbilical según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo a la edad gestacional. Los que nacieron a pretérmino presentaron una actividad SOD promedio de 3394,58 USOD/g Hb, con una desviación estándar de ± 460,61 USOD/g Hb. Los recién nacidos a término, presentaron una actividad SOD promedio de 3822,50 USOD/g Hb, con una desviación estándar de ± 906,05 USOD/g Hb. Los recién nacidos postérmino, presentaron una actividad SOD promedio de 4082,56 USOD/g Hb, con una desviación estándar de ± 573,23 USOD/g Hb. Asimismo, se

realizó una prueba T de Student para establecer si existían diferencias entre la actividad SOD según la clasificación neonatal por edad gestacional, encontrándose que no existen diferencias significativas entre los recién nacidos a pretérmino y los recién nacidos a término ( $p > 0,05$ ), entre los recién nacidos a pretérmino y los recién nacidos posttérmino ( $p > 0,05$ ), así mismo no se encontró diferencias significativas entre los recién nacidos a término y los recién nacidos a posttérmino ( $p > 0,05$ ).



**Gráfico N° 4:** Valor promedio de la actividad SOD según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo a la edad gestacional

Los porcentajes correspondientes se muestran en el gráfico N° 4.

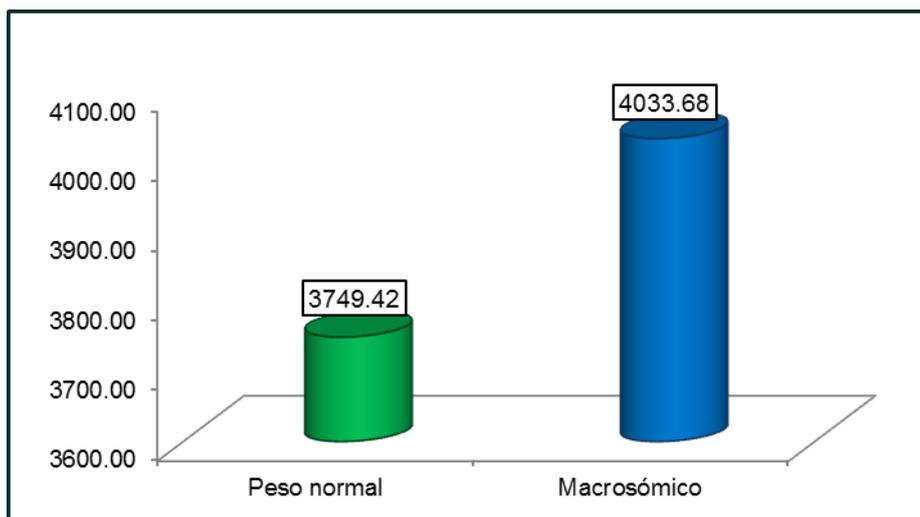
## Determinación de la Actividad (SOD) en sangre de cordón umbilical según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo al peso

**Tabla Nº 8:** Actividad SOD según clasificación de los recién nacidos de acuerdo al peso.

	Peso normal	Macrosómico	Prueba T	p-valor
Muestra	62	8	-,865	0,390
Media	3749,42 USOD/g Hb	4033,68 USOD/g Hb		
Desviación estándar	± 900,18	± 601,07		

Fuente: Elaboración propia

La tabla Nº 8 Presenta Determinación de la Actividad (SOD) en sangre de cordón umbilical según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo al peso. Los que nacieron con peso normal, presentaron una actividad SOD promedio de 3749,42 USOD/g Hb, con una desviación estándar de  $\pm 900,18$  USOD/g Hb. Los recién nacidos macrosómicos, presentaron una actividad SOD promedio de 4033,68 USOD/g Hb, con una desviación estándar de  $\pm 601,07$  USOD/g Hb. Asimismo, se realizó una prueba T de Sudent para establecer si existían diferencias entre la actividad SOD según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo al peso, encontrándose que no existen diferencias significativas entre los recién nacidos con peso normal y los recién nacidos macrosómicos ( $p > 0,05$ ).



**Gráfico Nº 5:** Valor promedio de la actividad SOD según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo al peso

Los porcentajes correspondientes se muestran en el gráfico Nº 5.

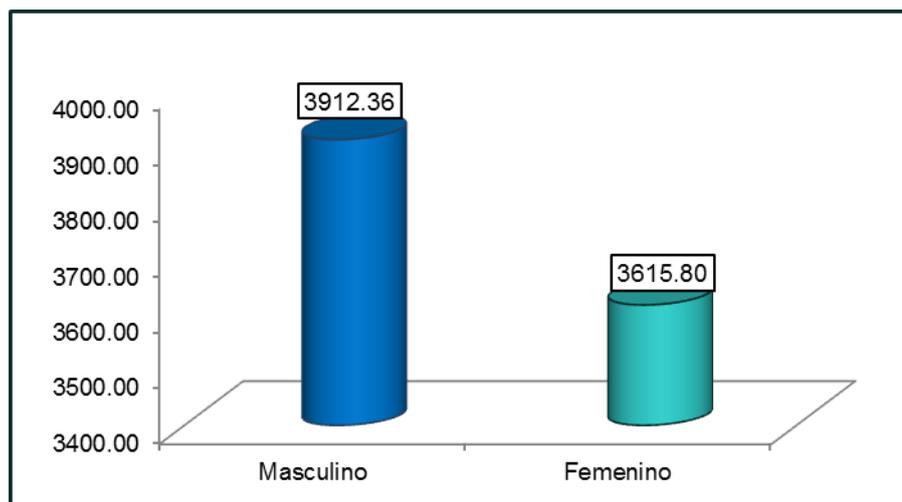
### **Determinación de la Actividad (SOD) en sangre de cordón umbilical según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo al sexo**

**Tabla Nº 9:** Actividad SOD según clasificación de los recién nacidos de acuerdo al sexo

	Masculino	Femenino	Prueba T	p-valor
Muestra	39	31	1,434	0,156
Media	3912,36 USOD/g Hb	3615,80 USOD/g Hb		
Desviación estándar	± 1059,13	± 502,72		

Fuente: Elaboración propia

La tabla N° 9 Presenta Determinación de la Actividad (SOD) en sangre de cordón umbilical según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo al sexo. Los recién nacidos del sexo masculino presentaron una actividad SOD promedio de 3912,36 USOD/g Hb, con una desviación estándar de  $\pm 1059,13$  USOD/g Hb, mientras que los recién nacidos del sexo femenino presentaron una actividad SOD promedio de 3615,80 USOD/g Hb, con una desviación estándar de  $\pm 502,72$  USOD/g Hb. Asimismo, se realizó una prueba T de Student para establecer si existían diferencias entre la actividad SOD por sexo, encontrándose que no existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).



**Gráfico N° 6:** Valor promedio de la actividad SOD según la clasificación de los recién nacidos de acuerdo al sexo

Los porcentajes correspondientes se muestran en el gráfico N° 6.

## 4.2. DISCUSION DE RESULTADOS

El embarazo es una etapa de procesos oxidativos lo que constituye una condición de susceptibilidad al estrés oxidativo, por lo que el mantenimiento del balance entre la producción de especies reactivas y el desarrollo de la protección antioxidante fetal es crítica<sup>11</sup>. El periodo perinatal, específicamente el momento del parto es donde se genera un alto nivel de estrés oxidativo por el paso del neonato del medio hipóxico intrauterino a un ambiente oxigenado<sup>11, 12</sup>. Por lo expuesto el presente estudio estuvo enfocado en determinar la actividad enzimática antioxidante neonatal de la SOD en el que se utilizó como muestra sangre de cordón umbilical por ser considerada una muestra más representativa para tal valoración.

Para determinar el daño que generan las especies reactivas cuya vida media es muy corta, se utilizan métodos indirectos ya que su cuantificación directa no es posible<sup>3, 14</sup>. Los hematíes son proclives a las lesiones oxidativas por su conformación de ácidos grasos, oxígeno y hemoglobina y por contener enzimas antioxidantes como la Superóxido Dismutasa. En el presente estudio se determinó el nivel de actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en hematíes de sangre de cordón umbilical.

En el presente estudio, los niveles de actividad SOD en los recién nacidos a término fueron superiores al grupo de neonatos nacidos

pretérmino; la actividad SOD en los neonatos clasificados postérmino fue ligeramente mayor en que en el grupo pretérmino, así mismo fue ligeramente mayor con respecto al grupo nacido a término. Esto se relaciona con los resultados hallados por Cañas et al <sup>29</sup>. en una población neonatal con bajo peso pero sin embargo con metodología y criterios de exclusión similares. La literatura referente a la relación entre el sistema de defensa antioxidante y la edad gestacional coinciden en mencionar que la mayoría de neonatos pretérmino tienen una menor capacidad antioxidante respecto a los que nacieron a término<sup>31, 32</sup>.

El periodo más crítico de ganancia de peso fetal se da durante el tercer trimestre de la gestación por lo que el estudio valoró la actividad enzimática de la Superóxido Dismutasa según el peso de los neonatos. No hallándose diferencia estadísticamente significativa entre los recién nacidos pretérmino, a término y postérmino respecto al peso. Aunque fue ligeramente mayor la actividad SOD en los neonatos clasificados como macrosómicos respecto a los que tuvieron peso normal; guardando relación con lo hallado por Cañas et al <sup>29</sup>.

Los valores promedio de la actividad SOD de los recién nacidos de sexo masculino fueron ligeramente mayores que los encontrados en el sexo femenino, de acuerdo a lo encontrado con otros autores como Parmigiani et al <sup>43</sup>.

Los resultados de la investigación son generalizables para la población de estudio (validez interna); así mismo dicha información puede servir

para continuar nuevas investigaciones en nuestro país. (Validez externa)

En el ámbito de la salud pública la importancia del estudio radica especialmente en la prevención de enfermedades que se podrían manifestar a partir de la etapa neonatal, como indican los estudios previos de la producción de radicales libre y su efectos perjudiciales<sup>30</sup>,  
<sup>32</sup>.

Cabe señalar que pese a la cantidad de artículos publicados al respecto la escases de trabajos específicamente en sangre de cordón de recién nacidos es escasa.

#### 4.3. CONCLUSIONES

Del estudio de la valoración de la actividad enzimática antioxidante eritrocitaria de la Superóxido Dismutasa dada en sangre de cordón umbilical, se concluye lo siguiente:

1. El grupo de los neonatos nacidos a término presento una actividad SOD ligeramente elevada respecto a los nacidos pretérmino, se observó también que en los neonatos clasificados postérmino presentaron una actividad SOD ligeramente elevada respecto a los neonatos nacidos pretérmino y a término respectivamente, aunque sin diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ).
2. Los neonatos clasificados como macrosómicos presentaron una actividad SOD ligeramente mayor respecto a los neonatos que tuvieron peso normal, aunque sin diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ).
3. Los valores de actividad SOD en neonatos con sexo masculino, fueron ligeramente mayores que los encontrados en el sexo femenino, aunque sin diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

#### **4.5. RECOMENDACIONES**

1. Estandarizar el método para la determinación enzimática antioxidante, de la Superóxido Dismutasa, para permitir incorporarlo al grupo de exámenes clínicos de tamizaje neonatal, permitiendo una mejor valoración del estrés oxidativo que sufre el neonato al momento del nacimiento.
2. Evaluar la respuesta enzimática antioxidante según el nivel de estrés que sufre el neonato durante el tercer trimestre, periodo en el cual el feto adquiere la madurez de su sistema enzimático antioxidante.
3. Evaluar la actividad enzimática antioxidante en neonatos cuyas madres sean tratadas con suplementos antioxidantes y sin ellos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Seclén S, Baracco R, Mohana S. Antioxidantes en poblaciones adultas del nivel del mar y de grandes alturas: Actividad de la Superóxido Dismutasa. Rev. Med. Hered. 2006; 17(1):4.
2. Martínez G. Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. Rev Cubana Farm. 2005; 39(3):1-8.
3. Pérez P.; Pérez de Alejo JL. Métodos para medir el daño oxidativo. Rev Cubana Med Milit. 2000; 29(3):192-98.
4. Ministerio de Salud; Instituto Nacional de Estadística e Informática. Perú: Compendio de estadísticas de nacimientos, 1999-2002. Lima: MINSA; 2005; 17 - 46.
5. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cubana Med Milit. 2002; 31(2):126-33.
6. Gutiérrez A. Estrés oxidativo en la gestación: ¿una nueva óptica en la atención a la embarazada? Rev. Cubana Obstet Ginecol. 2005; 31(1).

7. Corría J.; Cruz E. Balance entre las especies reactivas y los sistemas antioxidantes en la gestación normal. Rev. Cubana Obstet Ginecol. 2009; 35(2).
8. Ministerio de Salud; Instituto Nacional de Estadística e Informática. Cap. 6. Perú: Hechos vitales inscritos en Lima Metropolitana 2014. En: Perú: Natalidad, Mortalidad y Nupcialidad 2014. Lima: Publicaciones digitales INEI; 2014. p. 57.
9. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Perú Encuesta Demográfica y de Salud Familiar - ENDES 2014. Lima: Publicaciones digitales INEI; 2014.p. 251 -53.
10. Ticona M.; Huanco D. Factores de riesgo de la mortalidad perinatal en hospitales del Ministerio de Salud del Perú. Rev. Cubana Obstet Ginecol. 2011; 37(3):432-43.
11. Cruz E.; Corría J.; Milanés M.; Ramírez Y.; Sierra M.; Cruz M. et. al. Evidencias de la regulación del estado redox materno entre las 30 y 36 semanas de gestación. Rev. Cubana Obstet Ginecol. 2010; 36(4):0-0.
12. Concha M.; Sáez G. Cap 9. Implicaciones fisiopatológicas del estrés oxidativo fetal. En: Monografía XXIII. Desarrollo perinatal: origen de patologías adultas. Madrid. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia; 2008. P. 303-25.

13. Montoya N.; Correa J. Curvas de Peso al Nacer. Rev de Salud Pública; 2007.9 (1)1-10.
14. Konigsberg M. Radicales Libres y Estrés Oxidativo - Aplicaciones Médicas. México: El Manual Moderno; 2008.
15. Ahumada Dávila O.; Bardales Arroyo M. Perfil enzimático antioxidante en habitantes de Nueva Cajamarca – San Martín. [Tesis]. Lima: Servicio de Publicaciones de la UNMSM; 2011.
16. Adriazola Jokada M.; Olivera Pazos P. Enzimas antioxidantes eritrocitarias en sujetos de altura. [Tesis]. Lima: Servicio de publicaciones de la UNMSM; 2005.
17. De la Torre Binmelis R. Determinación de la actividad de Superóxido Dismutasa en poblaciones humanas normales y patológicas. [Tesis Doctoral]. Madrid: servicio de publicaciones de la Universidad Complutense de Madrid; 2002.
18. Cabrera García C.; Robles Cairo E. Evaluación del efecto antioxidante del ejercicio moderado y continuo en individuos con entrenamiento físico regular. [Tesis]. Lima: Servicio de publicaciones de la UNMSM; 2010.

19. Waypa G.; Chandel N.; Schumacker P. Model for hypoxic pulmonary vasoconstriction involving mitochondrial oxygen sensing. *Circ Res.* 2001; 88(12):59-66.
20. Hernández A. Tratado de Nutrición: Bases Fisiológicas y bioquímicas de la nutrición: Vol. 1. 2ª ed. Madrid: Médica Panamericana; 2010.
21. Turrens J.; Freeman B.; Levitt J; Crapo J. The effect of hyperoxia on superoxide production by lung sub mitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys.* 1982; 217(2):401-10.
22. Waypa GB.; Schumacker PT. O<sub>2</sub> sensing in hypoxic pulmonary vasoconstriction: the mitochondrial door re-opens. *Respiratory physiology & neurobiology.* 2002; 132(1):81-91.
23. Halliwell B.; O'Neill P.; Bannister JV. Free Radicals in Biology and Medicine: Vol 3. Harwood; 1985.
24. Ramírez M.; Arizmendi-Dorantes J. Importancia clínica del estrés oxidativo perinatal. *Anales Médicos.* 2012; 57(3):217-22.
25. Hernández Aguilar T. Estudio de la suplementación de la dieta materna con cerveza sin alcohol, su efecto sobre el metabolismo oxidativo materno infantil y sobre las propiedades antioxidantes de la leche humana. [Tesis Doctoral]. España: servicio de publicaciones de la Universidad de Valencia; 2015.

26. Lunghi L.; Ferretti ME.; Medici S.; Biondi C.; Vesce F. Control of human trophoblast function. *Reprod Biol Endocrinol.* 2007; 5 (6):1.
27. Agarwal A.; Gupta S.; Sikka S. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology.* 2006; 18(3):325-32.
28. Hracsko Z.; Orvos H.; Novak Z.; Pal A.; Varga IS. Evaluation of oxidative stress markers in neonates with intra-uterine growth retardation. *Redox Rep.* Feb 2008; 13(1):11-16.
29. Cañas P.; Olivares M.; Celedón C.; Llaguno S.; Valenzuela A. Actividad del sistema de defensa antioxidante y agresión oxidativa en eritrocitos de recién nacidos de bajo de peso y distintas edades gestacionales. *Rev. Chil. Pediatr.* 1988; 59(2):83-88.
30. Avery GB.; Fletcher MA.; MacDonald M. *Neonatología: fisiopatología y manejo del recién nacido.* 5ta ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2001.
31. Santiago R.; Domínguez M.; Barrios E.; de Andrés A.; Zaragoza F. Estrés oxidativo en el recién nacido y su influencia en la fisiología vascular pulmonar. *Acta Pediatr Esp.* 2007; 65(2):67-71.

32. Contreras Chova F. Valoración de la respuesta neonatal ante el estrés oxidativo. Análisis comparativo entre recién nacidos a término y pre términos. [Tesis Doctoral]. Granada: Servicio de publicaciones de la Universidad de Granada; 2005.
33. Ceriani JM. Manual de Procedimientos en Neonatología. 1era Edición. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2005.
34. Ceriani JM. Neonatología Práctica. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana; 2009.
35. Serrano MA. Cap 5. Papel de la placenta en el desarrollo fetal y en la salud del adulto. En: Monografía XXIII. Desarrollo perinatal: origen de patologías adultas. Madrid: Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia; 2008.p. 169-203.
36. Guérin P.; El Mouatassim S.; Ménéz Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. Hum Reprod Update. 2001; 7(2):175-89.
37. Garcia B.; Garcia O.; Clapes S.; Rodes L; Garcia JC. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: I. Superóxido Dismutasas. Rev Cubana Invest Biomed. 1995; 14(1).

38. Biri A.; Bozkurt N.; Turp A.; Kavutcu M.; Himmetoglu Ö.; Durak I. et. al. Role of oxidative stress in intrauterine growth restriction. Gynecologic and obstetric investigation, 2007; 64(4): 187-92.
39. Coz Ramón JD, Villavicencio Villanueva JN. Indicadores de estrés oxidativo en eritrocitos de una población de Huaraz. [Tesis] Lima: Servicio de publicaciones de la UNMSM; 2013.
40. Marklund S.; Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem. 1974; 47(3):469-74.
41. Rodak BF. Hematología: fundamentos y aplicaciones clínicas. 2da Ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2004.
42. Álvarez Deza MA, García Salazar P. Hemoglobina, hematocrito y somatometría de recién nacidos en altura y a nivel del mar. [Tesis]. Lima: Servicio de publicaciones de la UNMSM; 2003.
43. Parmigiani S, Pagador C, Massari A, Bussolati G, Bevilacqua G. Valores normales de los metabolitos reactivos del oxígeno en la sangre del cordón umbilical de niños a término con un método colorimétrico. Acta Biomed Ateneo Parmense. 2000; 71(1-2):59-64.

## ANEXO Nº 1 INSTRUMENTO

### FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

Código de Paciente:.....

ITEMS	OTROS DATOS
<p>1. Algun criterio de exclusion que altere la actividad enzimática antioxidante, como Neonatos cuyas madres han llevado suplemento antioxidante durante el embarazo o padezcan de diabetes gestacional. Neonatos de gestación múltiple, nacidos con malformaciones congénitas, síndromes cromosómicos, infección, incompatibilidad sanguínea u otras complicaciones como preeclampsia y circular de cordón?</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/> Si    <input type="checkbox"/> No    _____</p>	<p>Tipo de parto:</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/> Eutócico    <input type="checkbox"/> Distócico</p> <p>Numero de embarazo:</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/> 1ero    <input type="checkbox"/> 2do    _____</p> <p>Embarazo de riesgo:</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/> Si    <input type="checkbox"/> No    _____</p>
<p>2. Presenta el neonato características fenotípicas de síndrome de Down que lo asocien a un incremento en el nivel de la actividad enzimática antioxidante?</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/> Si    <input type="checkbox"/> No    _____</p>	<p>Edad de la madre:</p> <p style="text-align: center;">_____ años</p> <p>Enfermedad preexistente de la madre:</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>3. Edad gestacional:</p> <p style="text-align: center;">_____ Semanas</p>	<p>Observaciones:</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>4. Percentil (según anexo #2) para edad gestacional:</p> <p style="text-align: center;">Percentil    _____</p> <p>(PEG) <input type="checkbox"/></p> <p>(AEG) <input type="checkbox"/></p> <p>(GEG) <input type="checkbox"/></p>	<p>_____</p> <p>_____</p> <p>_____</p>
<p>5. Peso neonatal:</p> <p style="text-align: center;">_____ grs.</p>	<p>_____</p> <p>_____</p>
<p>6. Genero</p> <p style="text-align: center;"><input type="checkbox"/> M                      <input type="checkbox"/> F</p>	<p>_____</p>

Fecha: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

## ANEXO 2: MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA PRINCIPAL	OBJETIVO PRINCIPAL	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE	INDICADOR	ESCALA DE VALOR	INSTRUMENTO	ÍTEMS
¿Cuánto es la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos?	Determinar la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos.	La SOD esta enzima se encarga de la reacción de dismutación del radical anión Superóxido intracelular (O <sub>2</sub> <sup>•-</sup> ). La medición de la actividad de esta enzima da cuenta del estado del sistema de defensa antioxidante.	Se utilizara un espectofotómetro para las mediciones y finalmente se calculara la cantidad de actividad enzimática por cada gramo de hemoglobina que tenga la muestra.	Variable Cuantitativa continua	Unidades internacionales por gramos de hemoglobina U/gr Hb	De Razón	Medición espectrofotométrica y ficha de recolección de datos	1, 2
<b>PROBLEMAS ESPECIFICOS</b>	<b>OBJETIVOS ESPECIFICOS</b>	<b>DEFINICION CONCEPTUAL</b>	<b>DEFINICION OPERACIONAL</b>	VARIABLES				
¿Cuánto es la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos según su edad gestacional?	Determinar la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos según su edad gestacional.	Edad gestacional, Se define como semanas de vida intrauterina cumplidas al momento del parto.	Se calculara a partir de la fecha de su última menstruación. Por ecografía. Por medición de la circunferencia cefálica y abdominal.	Variable Cuantitativa Discreta	RN pre término: < 38 semanas. RN a término: entre 38 a 41 semanas. RN post-término: con > 41 semanas.	Razón o proporción	Ficha de recolección de datos	3, 4
¿Cuánto es el nivel de actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical de los neonatos según su peso?	Determinar la actividad enzimática antioxidante de la SOD en sangre de cordón umbilical en los neonatos según su peso.	Peso Neonatal, Es la determinación antropométrica más significativa, determina el buen crecimiento y desarrollo del niño y se expresa en gramos.	La medición se realizara inmediatamente después del parto, luego de cortar el cordón umbilical. Se usar una balanza graduada en gramos.	Variable Cuantitativa continua	RN macrosómico: ≥ 4000grs. RN peso normal: entre 2500 a 3999 grs RN con bajo peso: < 2.500.	De intervalo	Ficha de recolección de datos	5
¿Cuánto es el nivel de actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical de los neonatos según su género?	Determinar la actividad enzimática antioxidante de la Superóxido Dismutasa en sangre de cordón umbilical en los neonatos según su género.	Genero, Condición de un organismo que distingue entre masculino y femenino.	Femenino: género gramatical; propio de la mujer. Masculino: género gramatical, propio del hombre.	Variable Cualitativa categórica dicotómica	Masculino Femenino	nominal	Ficha de recolección de datos	6

## **ANEXO N° 3: PERMISO DE ESTUDIO**