



HOSPITAL  
**CLÍNIC**  
I PROVINCIAL  
DE BARCELONA

OBSTETRICIA  
GINECOLOGIA I

---

UNIVERSITAT DE BARCELONA



Centre de recursos per a l'aprenentatge  
i la investigació

Biblioteca de Medicina

---

**UNIVERSIDAD DE BARCELONA**

**DIVISION CIENCIAS DE LA SALUD**

**DEPARTAMENTO DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGIA,  
PEDIATRIA, RADIOLOGIA Y MEDICINA FISICA**

**Area de Pediatría**

**ESTUDIO DE LA  
POLIGLOBULIA EN EL  
RECIEN NACIDO HIJO DE  
MADRE DIABETICA**

**Tesis para optar  
al Grado de Doctor en Medicina**

**presentada por OFELIA CRUZ MARTINEZ**

**Directores: Prof. R. Jiménez  
Prof. X. Pastor**

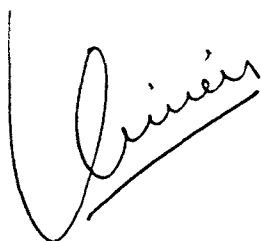
**BARCELONA, OCTUBRE DE 1992**

Don **RAFAEL JIMENEZ GONZALEZ**, Catedrático de Pediatría  
de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

C E R T I F I C A :

Que Doña **OFELIA CRUZ MARTINEZ**  
ha trabajado bajo mi dirección, la Tesis Doctoral sobre el tema:  
**"Poliglobulia en el recién nacido hijo de madre diabética"**,  
estando en condiciones de ser presentada para la obtención del  
grado de Doctor.

Lo que certifico en Barcelona a 2 de noviembre de 1.992

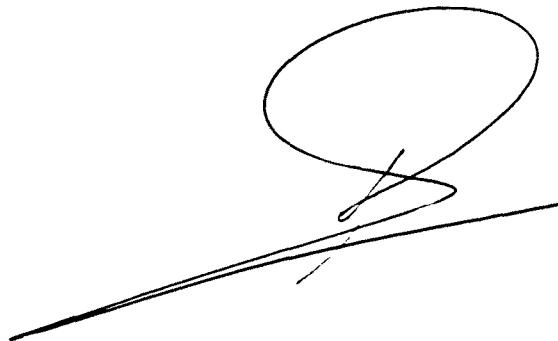
A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jiménez', written in a cursive style with a horizontal line underneath.

Don **XAVIER PASTOR DURAN**, Profesor Titular de Pediatría de  
la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona.

**C E R T I F I C A :**

Que Doña **OFELIA CRUZ MARTINEZ**  
ha trabajado bajo mi dirección, la Tesis Doctoral sobre el tema:  
**"Poliglobulia en el recién nacido hijo de madre diabética"**,  
estando en condiciones de ser presentada para la obtención del  
grado de Doctor.

Lo que certifico en Barcelona a 2 de noviembre de 1.992

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized loop at the top and a long, sweeping horizontal stroke extending to the left and slightly downwards at the bottom.

*A mi familia*

# **Agradecimientos**

Al Profesor Manuel Cruz Hernández, Catedrático de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona por su magisterio humano y profesional, fundamento y estímulo de mi formación como Peditra.

Al Profesor Rafael Jiménez González, Catedrático de Pediatría y Jefe de Subdivisión del Hospital Clínico de Barcelona. Como director de esta Tesis ha sido un constante apoyo, ofreciendo su consejo y ayuda en todo momento.

Al Profesor Xavier Pastor Durán, Profesor Titular de Pediatría, por su inestimable labor como co-director de esta tesis, por haber despertado en mí el deseo de iniciar esta Tesis y haberme guiado hasta la conclusión de la misma.

A los Profesores Jesús González Merlo y Xavier Iglesias Guiu, Catedráticos de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Barcelona por facilitar mi acceso a toda la información relativa a las madres de los niños estudiados

A los Doctores Joan Lluís Vives Corrons y Josep Lluís Aguilar Bascompte, Jefe de Servicio y Médico Adjunto, respectivamente, del Laboratorio de Hematología del Hospital Clínic, por ofrecerme su ayuda técnica y consejo.



---

Al Doctor Angel Remacha Médico Adjunto del Laboratorio de Hematología del Hospital Sant Pau de Barcelona, por su colaboración en las determinaciones de eritropoyetina.

A las Doctoras Francisca Rivera Fillat y Roser Casamitjana Abella, Jefe de Servicio y Jefe de Sección del Laboratorio Hormonal del Hospital Clínic de Barcelona, por su ayuda en las determinaciones hormonales.

Al Dr Fernando Marín, Cap de Secció d'Estadística y Tractament de la Informació del ICS, por sus valiosas sugerencias en el tratamiento estadístico.

A los compañeros de la línea de investigación y antiguos residentes del Departamento de Pediatría, Dres. Dolors Canadell, Pere Doménech, Josep Ma. Jorba y Andres Martínez, con los que he compartido muchas horas de trabajo durante la realización de este estudio.

A todos los médicos de la Subdivisión de Pediatría del HCP, pero especialmente al Dr. Enric Vela, Jefe de Sección de Hemato-Oncología Pediátrica, por su dedicación en mi formación y su confianza y a los Dres. Claudia Fortuny y Josep M<sup>a</sup> Roquer, compañeros y amigos a lo largo de distintas etapas de nuestro quehacer profesional.

A la Srta. Ana Sáez Ortuño, por sus valiosas aportaciones y eficaz labor, clave en la edición de esta tesis.

A las enfermeras, comadromas y auxiliares de Neonatología, Sala de Partos y Laboratorios del Hospital Clínic de Barcelona, que han procurado facilitar en todo momento mi actuación.

A las entidades que han ofrecido su soporte: la Fundación Heinz-Koch y el FIS, mediante la concesión de una beca que ha sufragado parte de los gastos de este tesis.

Debo agradecer también la confianza que las madres y padres de los niños estudiados han depositado en mi trabajo al permitir su estudio, esperando que los resultados actuales, y los que más adelante puedan aparecer ayuden al mejor conocimiento y tratamiento de los recién nacidos.

**INDICES**

# *Indice general*

---

	<u>Página</u>
Índice de Tablas	viii
Índice de Figuras	xvi
Tabla de abreviaturas	xx
1. <b><u>INTRODUCCION</u></b>	1
1.1 <b>MOTIVACIONES GENERALES</b>	2
1.2 <b>DESARROLLO DE LA HEMATOPOYESIS EN EL FETO NORMAL</b>	4
1.2.1     Desarrollo de la eritropoyesis intraútero	4
1.2.2     Control de la eritropoyesis	8
1.3 <b>ERITROPOYETINA (Epo)</b>	16
1.3.1     Producción y regulación de la eritropoyetina	17
1.3.2     Eritropoyetina en el periodo fetal y neonatal	19
1.4. <b>SÍNTESIS DE HEMOGLOBINAS EN EL FETO</b>	24
1.5 <b>POLIGLOBULIA EN EL RECIÉN NACIDO</b>	28
1.6 <b>EL RECIÉN NACIDO HIJO DE MADRE DIABÉTICA</b>	34
1.6.1     Estudio retrospectivo sobre el hijo de madre diabética	35
1.7 <b>ADAPTACIÓN METABÓLICA MATERNO-FETAL A LA GESTACIÓN</b>	41
1.7.1     Adaptación metabólica al embarazo normal	41
1.7.2     Metabolismo y crecimiento fetal	43
1.7.3     Adaptación metabólica a la gestación diabética	47
1.7.4     Repercusión en el feto de la gestación diabética	49

---

	<u>Página</u>
2. <b><u>JUSTIFICACION Y OBJETIVOS</u></b>	53
2.1 <b>PROBLEMÁTICA ACTUAL DE LOS ASPECTOS HEMATOLÓGICOS DEL HMD</b>	54
2.2 <b>OBJETIVOS</b>	58
3. <b><u>MATERIAL Y METODOS</u></b>	59
3.1 <b>MUESTRA</b>	60
3.1.1 Criterios de inclusión	60
3.1.2 Criterios de exclusión	65
3.2 <b>DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	69
3.3 <b>MÉTODOS</b>	73
3.3.1 Determinaciones somatométricas	73
3.3.2 Gasometría de vasos umbilicales y capilar fetal	76
3.3.3 Variables del hemograma: hemoglobina, hematocrito, VCM, hematíes	77
3.3.4 Hematocrito capilar	79
3.3.5 Reticulocitos	80
3.3.6 Hemoglobina fetal	81
3.3.7 Hemoglobina glucosilada materna (HbA <sub>1c</sub> )	82
3.3.8 Glucemia	84
3.3.9 Insulina	85
3.3.10 C-peptido	86
3.3.11 Glucagón	88
3.3.12 Cálculo de las ratios molares	89
3.3.13 Determinación de eritropoyetina por RIA	91
3.4 <b>LISTADO DE VARIABLES</b>	94
3.5 <b>TRATAMIENTO ESTADÍSTICO</b>	107

---

	<u>Página</u>	
3.5.1	Estrategia general del análisis estadístico	107
3.5.2	Estadística descriptiva	108
3.5.3	Pruebas de hipótesis estadística	108
3.5.4	Expresión de los resultados	111
4.	<b><u>RESULTADOS</u></b>	115
4.1.	<b>DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA Y DIFERENCIAS PRINCIPALES</b>	117
4.1.1	Distribución de la casuística	117
4.1.2	Parámetros gestacionales	121
4.1.3	Hábito tabáquico	125
4.1.4	Control obstétrico	125
4.1.5	Control diabetológico	129
4.1.6	Parámetros del parto	129
4.1.7	Parámetros clínicos neonatales	137
4.2	<b>DIFERENCIAS PRINCIPALES EN LAS VARIABLES ANALÍTICAS</b>	147
4.2.1	Variables somatométricas maternas	147
4.2.2	Variables somatométricas neonatales	149
4.2.3	Variables endocrino-metabólicas maternas	149
4.2.4	Variables endocrino-metabólicas neonatales	157
4.2.5	Gasometría en cordón umbilical	157
4.2.6	Variables hematológicas maternas	157
4.2.7	Variables hematológicas neonatales	163
4.3	<b>RELACIÓN ENTRE LA POLIGLOBULIA DEL HMD Y LAS CIFRAS DE ERITROPOYETINA EN SANGRE DE CORDÓN</b>	167

---

	<u>Página</u>	
4.4	<b>ANÁLISIS DE LA RELACIÓN ENTRE LA POLIGLOBULIA Y OTROS ASPECTOS DE LA FETOPATÍA DEL HIJO DE MADRE DIABÉTICA</b>	172
4.5	<b>ANÁLISIS DE FACTORES PERINATALES DISTORSIONANTES EN LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS NEONATALES</b>	182
4.6	<b>INFLUENCIA DEL CONTROL METABÓLICO DE LA GESTANTE</b>	191
4.7.	<b>IMPLICACIONES CLÍNICAS Y FISIOPATOLÓ- GICAS EN EL FENÓMENO POLIGLOBULICO</b>	211
4.7.1	Predicción clínica del fenómeno de la poliglobulia mediante análisis discriminante	211
4.7.2	Implicaciones fisiopatológicas en el fenómeno de la poliglobulia del HMD mediante análisis discrimi- nante	219
4.7.3	Predicción clínica de los paráme- tros hematológicos en el HMD me- diante regresión múltiple	225
4.7.4	Predicción fisiopatológica de los parámetros hematológicos en el HMD mediante regresión múltiple	232
5.	<b><u>DISCUSION</u></b>	235
5.1	<b>DISCUSIÓN DE LA MUESTRA</b>	239
5.2	<b>DISCUSIÓN DE LOS MÉTODOS</b>	244
5.3.	<b>DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS</b>	253



---

	<u>Página</u>	
5.3.1	Estado materno	253
5.3.1.1	Antecedentes gestacionales	253
5.3.1.2	Datos somatométricos maternos	256
5.3.1.3	Datos endocrino-metabólicos maternos	258
5.3.2	Estado neonatal	262
5.3.2.1	Situación en el parto	262
5.3.2.2	Estado vital inmediato	263
5.3.2.3	Evaluación somatométrica neonatal	268
5.3.2.4	Evaluación endocrino-metabólica neonatal	274
5.4	<b>POLIGLOBULIA Y ERITROPOYETINA EN EL HMD</b>	278
5.5	<b>RELACIÓN ENTRE LA POLIGLOBULIA Y OTROS SIGNOS DE LA FETOPATIA DEL HMD</b>	286
5.6.	<b>INFLUENCIA DE FACTORES PERINATALES DISTORSIONANTES</b>	290
5.6.1	Hábito tabáquico materno	291
5.6.2	Hipertensión en la gestación	294
5.6.3	Influencia del tipo de parto	296
5.7	<b>PREDICCIÓN DE LA POLIGLOBULIA EN EL HMD</b>	300
6.	<b><u>RESUMEN</u></b>	304
7.	<b><u>CONCLUSIONES</u></b>	311
8.	<b><u>BIBLIOGRAFIA</u></b>	315
9.	<b><u>ANEXOS</u></b>	356

## ***Indice de Tablas***

---

	<u>Página</u>
Tabla 1.1. Valores promedio eritrocitarios en la vida intrauterina.	9
Tabla 1.2. Etiología de la poliglobulia en el recién nacido.	30
Tabla 1.3. Estadística asistencial del Servicio de Neonatología de la Subdivisión de Pediatría. Hospital Clínico. Barcelona.	36
Tabla 1.4. Patología neonatal y tipo de diabetes materna.	40
Tabla 3.1. Clasificación de la diabetes mellitus en el embarazo según P. White.	63
Tabla 3.2. Modelo utilizado para la comparación de datos independientes.	113
Tabla 3.3. Modelo utilizado para la comparación de dos grupos independientes.	113
Tabla 4.1. Distribución de los R.N.	119
Tabla 4.2. Antecedentes de macrosomas en gestaciones previas.	122
Tabla 4.3. Frecuencia de patología materna asociada.	124
Tabla 4.4. Hábito tabaquico durante la gestación.	126
Tabla 4.5. Consumo de cigarrillos al día por las gestantes fumadoras.	127
Tabla 4.6. Control obstétrico según el tipo de gestante.	128

---

	<u>Página</u>
Tabla 4.7. Control clínico diabetológico en la gestación.	132
Tabla 4.8. Control materno según hemoglobina glucosilada en el parto.	133
Tabla 4.9. Distribución del tipo de parto.	134
Tabla 4.10. Forma de inicio del parto.	134
Tabla 4.11. Anestesia administrada a la madre en el parto.	136
Tabla 4.12. Edad gestacional de los recién nacidos.	138
Tabla 4.13. Test de Apgar al minuto y cinco minutos de vida.	139
Tabla 4.14. Patología neonatal asociada.	140
Tabla 4.15. Poliglobulia en los recién nacidos.	141
Tabla 4.16. Ictericia patológica (hiperbilirrubinemia) en los recién nacidos.	143
Tabla 4.17. Adecuación del peso neonatal respecto a la edad gestacional.	145
Tabla 4.18. Somatometría materna según grupos de recién nacidos.	148
Tabla 4.19. Somatometría neonatal según grupos de recién nacidos (I).	150
Tabla 4.20. Somatometría neonatal según grupos de recién nacidos (II).	152
Tabla 4.21. Datos endocrino-metabólicos maternos según grupos de recién nacidos (I).	154

---

	<u>Página</u>
Tabla 4.22. Datos endocrino-metabólicos maternos según grupos de recién nacidos (II).	155
Tabla 4.23. Hemoglobinas glucosiladas en las madres diabéticas a lo largo de la gestación.	156
Tabla 4.24. Datos endocrino-metabólicos neonatales según grupo de recién nacidos (I).	158
Tabla 4.25. Datos endocrino-metabólicos neonatales según grupo de recién nacidos (II).	160
Tabla 4.26. Gasometria en cordón umbilical según tipo de recién nacido.	161
Tabla 4.27. Datos hematológicos maternos según grupos de recién nacidos.	162
Tabla 4.28. Datos hematológicos según grupos de recién nacidos.	164
Tabla 4.29. Eritropoyetina y hemoglobina fetal en sangre de cordón umbilical según tipo de recién nacido.	165
Tabla 4.30. Indicadores de poliglobulia (I).	170
Tabla 4.31. Indicadores de poliglobulia (II).	170
Tabla 4.32. Relación entre las cifras de eritropoyetina y la presencia de poliglobulia.	171
Tabla 4.33. Correlación entre los niveles de eritropoyetina y los valores del hemograma.	171

---

	<u>Página</u>
Tabla 4.34. Correlación entre los parámetros somatométricos neonatales y los datos endocrino-metabólicos de la madre en los HMD.	174
Tabla 4.35. Correlación entre los datos somatométricos y endocrino-metabólicos del recién nacido HMD.	175
Tabla 4.36. Correlación entre parámetros endocrinometabólicos de la madre y del recién nacido HMD.	176
Tabla 4.37. Correlación entre datos somatométricos y hematológicos del HMD.	177
Tabla 4.38. Correlación entre los parámetros hematológicos y endocrinometabólicos en el HMD.	177
Tabla 4.39. Relación entre la existencia de poliglobulia en el HMD y las variables endocrino-metabólicas neonatales (I).	178
Tabla 4.40. Relación entre la existencia de poliglobulia en el HMD y las variables endocrino-metabólicas neonatales (II).	179
Tabla 4.41. Relación entre la existencia de poliglobulia en el HMD y las variables somatométricas neonatales (I).	180
Tabla 4.42. Relación entre la existencia de poliglobulia en el HMD y las variables somatométricas neonatales (II).	181

---

	<u>Página</u>
Tabla 4.43. Relación entre la toxemia materna y la somatometría placentaria.	185
Tabla 4.44. Relación entre el hábito tabaquico materno y las variables somatométricas neonatales.	186
Tabla 4.45. Relación entre el hábito tabaquico materno y las variables gasométricas.	187
Tabla 4.46. Relación entre el hábito tabaquico materno y las variables endocrino-metabólicas maternas.	188
Tabla 4.47. Relación entre la eritropoyetina en sangre de cordón y el tipo de parto.	189
Tabla 4.48. Relación entre la eritropoyetina en sangre de cordón y las maniobras de reanimación del recién nacido.	189
Tabla 4.49. Correlación entre las variables gasométricas, Apgar y hematólogicas en el recién nacido.	190
Tabla 4.50. Control materno según hemoglobina glucosilada en el 3er trimestre de gestación.	193
Tabla 4.51. Relación entre la existencia de patología materna asociada y control de la gestante diabética.	194
Tabla 4.52. Relación entre la existencia de patología neonatal y control de la gestante diabética.	195

---

	<u>Página</u>
Tabla 4.53. Relación entre el control de la gestante diabética y la existencia de poliglobulia en el recién nacido.	196
Tabla 4.54. Relación entre el control de la gestante diabética y la existencia de ictericia patológica en el recién nacido.	197
Tabla 4.55. Somatometria materna según control (HbA1 en parto).	198
Tabla 4.56. Somatometria neonatal según control-I (HbA1 en parto).	199
Tabla 4.57. Somatometria neonatal según control-II (HbA1 en tercer trimestre de gestación).	200
Tabla 4.58. Datos endocrino-metabólicos maternos según control (HbA1 en parto).	201
Tabla 4.59. Datos endocrino-metabólicos neonatales según control (HbA1 en parto).	202
Tabla 4.60. Gasometria en cordón umbilical según control materno (HbA1 en parto).	203
Tabla 4.61. Datos hematológicos neonatales según control-I (HbA1 en parto).	204
Tabla 4.62. Datos hematológicos neonatales según control-II (HbA1 en tercer trimestre).	205



---

	<u>Página</u>
Tabla 4.63. Correlación entre las hemoglobinas glucosiladas en 1º y 2º trimestre de gestación y otras variables cuantitativas en el HMD.	206
Tabla 4.64. Correlación entre las hemoglobinas glucosiladas en 3º trimestre de gestación y otras variables cuantitativas en el HMD.	207
Tabla 4.65. Correlación entre la hemoglobina glucosilada en el parto en la gestante diabética y otras variables cuantitativas.	208
Tabla 4.66. Correlación entre las hemoglobinas glucosiladas a lo largo de la gestación y en el parto con otras variables cuantitativas en las gestantes diabéticas mal controladas (HbA1 parto > 8.2%).	209
Tabla 4.67. Resultados de la clasificación discriminante del fenómeno poliglobúlico en los HMD en relación a los aspectos clínicos (Casos seleccionados para el análisis).	218
Tabla 4.68. Resultados de la clasificación discriminante del fenómeno poliglobúlico en los HMD en relación a los aspectos fisiopatológicos (casos seleccionados para el análisis).	224

## ***Indice de Figuras***

---

		<u>Página</u>
Figura 1.1.	Etapas de la hematopoyesis embrionaria y fetal que indican el momento de aparición y la participación comparativa de los centros principales de hematopoyesis.	5
Figura 1.2.	Efectos sobre la eritropoyesis de la eritropoyetina y otros factores de crecimiento.	11
Figura 4.1.	Distribución de los casos recogidos.	120
Figura 4.2.	Antecedentes de macrosomas en gestaciones previas.	123
Figura 4.3.	Control diabetológico materno según HbA1 en el parto.	131
Figura 4.4.	Distribución del tipo de parto.	135
Figura 4.5.	Poliglobulia en los recién nacidos.	142
Figura 4.6.	Ictericia patológica (hiperbilirrubinemia) en los recién nacidos.	144
Figura 4.7.	Adecuación del peso neonatal a la edad gestacional.	146
Figura 4.8.	Somatometria neonatal: pliegue subescapular.	151
Figura 4.9.	Somatometria neonatal: Desviación porcentual del peso (DESP50RN).	153
Figura 4.10.	C-Péptido en cordón en los grupos de recién nacidos.	159

---

	<u>Página</u>
Figura 4.11. Eritropoyetina en cordón en los grupos de recién nacidos	166
Figura 4.12. Eritropoyetina en cordón en la poliglobulia del HMD.	168
Figura 4.13. Hematocrito en cordón según control materno (HbA1 en el parto).	210
Figura 4.14. Histograma de la función discriminante de poliglobulia según aspectos clínicos (Grupo 1 = poliglobulia si).	216
Figura 4.15. Histograma de la función discriminante de poliglobulia según aspectos clínicos (Grupo 2 = poliglobulia no).	217
Figura 4.16. Histograma de la función discriminante de poliglobulia según fenómenos fisiopatológicos (Grupo 1 = poliglobulia si).	222
Figura 4.17. Histograma de la función discriminante de poliglobulia según fenómenos fisiopatológicos (Grupo 2 = poliglobulia no).	223
Figura 4.18. Ajuste de la ecuación del análisis de regresión para el hematocrito capilar en cordón en función de la hemoglobina glucosilada en el tercer trimestre de gestación.	228
Figura 4.19. Ajuste de la ecuación del análisis de regresión para el hematocrito capilar en cordón en función de la hemoglobina glucosilada en el parto.	231

---

	<u>Página</u>
Figura 4.20. Gráfico de correlación entre el hematocrito a las 6 horas de vida y el nivel de C-Péptido en sangre de cordón en los HMD.	233
Figura 4.21. Gráfico de correlación entre hematocrito a las 6 horas de vida y eritropoyetina en sangre de cordón en los HMD.	234

# *Abreviaturas*

---

DESP50RN	Desviación del peso neonatal respecto al p50 para su edad de gestación
EBAU	Exceso de base en arteria umbilical
EBVU	Exceso de base en vena umbilical
EG	Edad gestacional
EPO	Eritropoyetina
FUR	Fecha última regla
Hb	Hemoglobina
HbA <sub>1</sub>	Hemoglobina glucosilada
HbF	Hemoglobina fetal
HCG	Gonadotrofina coriónica humana
Hct	Hematocrito
HMD	Hijo de madre diabética
HMD-G	Hijo de madre diabética gestacional
HMD-I	Hijo de madre diabética insulino-dependiente
hPL	Lactógeno placentario
IGF	Insulin growth factor
IRI	Insulina determinada por RIA
IRG	Glucagón determinado por RIA

---

pCO <sub>2</sub> AU	pCO <sub>2</sub> arteria umbilical
pCO <sub>2</sub> VU	pCO <sub>2</sub> vena umbilical
PESP50RN	Peso teórico del RN correspondiente al percentil 50 para su edad gestacional
pO <sub>2</sub> AU	pO <sub>2</sub> arteria umbilical
pO <sub>2</sub> VU	pO <sub>2</sub> vena umbilical
pHAU	pH arteria umbilical
pHVU	pH vena umbilical
RCPG	Ratio C-péptido/glucosa
RCPIRG	Ratio C-péptido/glucagón
RIA	Radioinmunoensayo
RIRGG	Ratio glucagón/glucosa
RIRICP	Ratio insulina/C-péptido
RIRIG	Ratio insulina/glucosa
RIRIRG	Ratio insulina/glucagón
RN	Recién nacido
VCM	Volumen corpuscular medio



DS	Desviación estándar
EE	Error estándar de la media
f	Análisis de la varianza paramétrico. ANOVA
k	Test de Kruskal Wallis - ANOVA no paramétrico
N	Número de casos
NS	No significativo
t	Prueba T de Student para datos independientes
U	Prueba U de Mann Whitney

# ***1. INTRODUCCION***

### 1.1. MOTIVACIONES GENERALES.

El campo de la Pediatría es el de la salud del niño y por tanto el concerniente a todos los factores (fisiológicos, psicológicos, sociales) que puedan afectarla. La edad pediátrica, como es sabido, está caracterizada ante todo por el fenómeno del crecimiento y desarrollo. El recién nacido es el exponente máximo de este dinamismo, con aspectos evolutivos únicos en su pasado fetal y en su adaptación a la vida extrauterina <sup>(1)</sup>. De ahí que la Neonatología, entre otros motivos, sea una de las subespecialidades pediátricas mejor definidas.

Por otra parte, los avances de la Pediatría en lo referente a la mortalidad infantil son obvios, pero sigue siendo el período neonatal el más vulnerable. La mortalidad en la época del lactante entre los años 1950 y 1970 descendió del 70 al 30/1000, mientras que en el mismo período la mortalidad neonatal se mantuvo alrededor del 20/1000. En el año 1980 la mortalidad infantil era del 15,6/1000, correspondiendo al período neonatal el 10,9/1000. En Cataluña, en el año 1986, la mortalidad hasta los 5 años fue del 0,43/1000 habitantes, pero en el período neonatal la mortalidad era de

5,54/1000 recién nacidos vivos<sup>(1)</sup>. Por todo ello no resulta difícil comprender uno de los motivos de el porqué la investigación pediátrica tiene actualmente su centro de gravedad en la época neonatal.

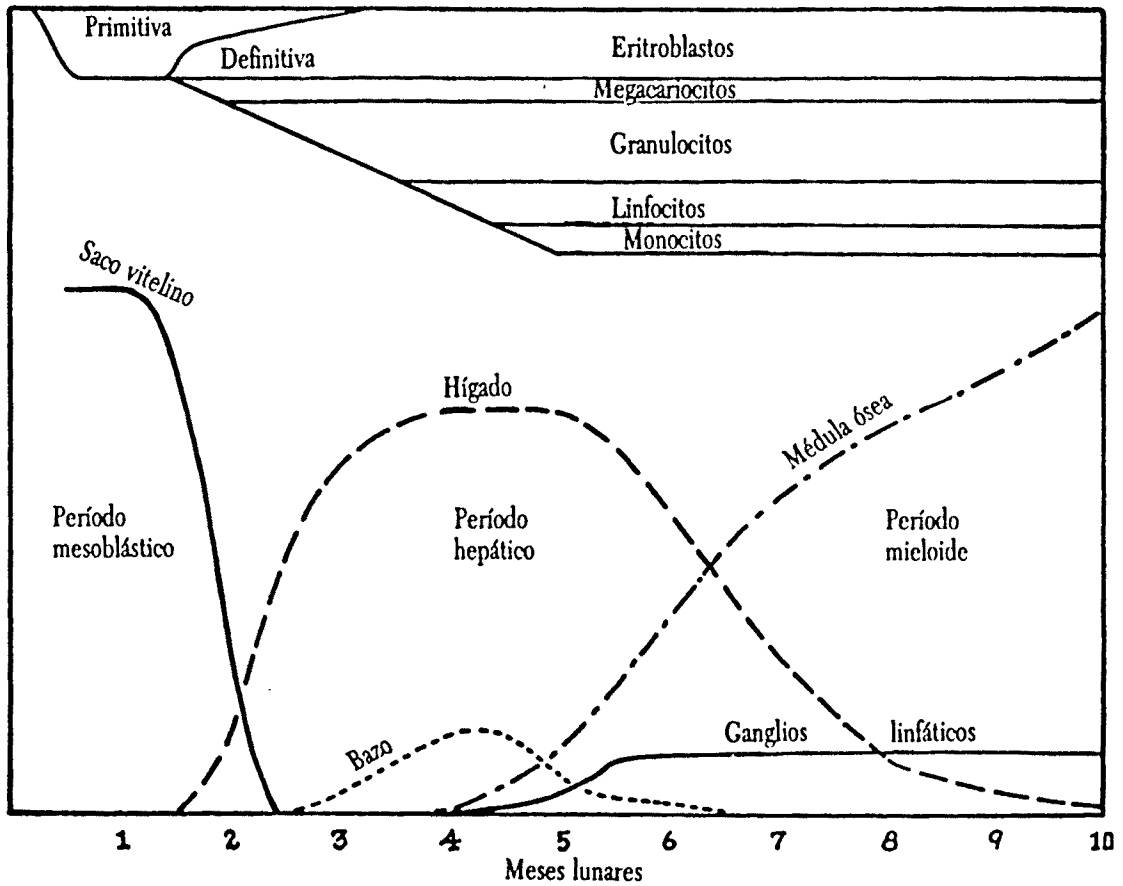
En el período de postgrado, en la etapa de especialización en Pediatría, es cuando se comienzan a gestar los proyectos de investigación y se suelen dar los primeros pasos en este campo. Aparte de los condicionamientos generales ya expuestos, existen otros puntuales que influyen en la elección de los temas a investigar. En nuestro Departamento de Pediatría, el Profesor Xavier Pastor Durán inició una línea de investigación neonatológica sobre el recién nacido hijo de madre diabética <sup>(2)</sup>. Tras su excelente trabajo inicial, otros han sido fruto de la misma línea <sup>(3, 4)</sup>. Sin embargo, quedan algunos aspectos no suficientemente aclarados, parte de los cuales son objeto de atención en el presente estudio.

## **1.2. DESARROLLO DE LA HEMATOPOYESIS EN EL FETO NORMAL.**

### **1.2.1. DESARROLLO DE LA ERITROPOYESIS INTRAÚTERO.**

La Hematopoyesis intraútero puede dividirse en 3 períodos: Mesoblástico, hepático y meloide, de acuerdo con el lugar donde se localiza su producción <sup>(5)</sup> (Fig. 1.1). Todas las células sanguíneas derivan del tejido conectivo embrionario o mesénquima. La Hematopoyesis puede identificarse a partir del día 19º de gestación, cuando se observan islotes sanguíneos en el saco vitelino. Las células periféricas de estos islotes forman las paredes de los primitivos vasos sanguíneos y las células centrales darán origen a las células sanguíneas primitivas o hemocitoblastos <sup>(6)</sup>. Este es el inicio de la etapa mesoblástica. Hacia el 22º día de gestación pueden observarse estos islotes diseminados en todos los tejidos mesodérmicos corporales. Alrededor de la 6ª semana de gestación comienza a declinar la actividad intravascular de la eritropoyesis y desaparece hacia el final del tercer mes de vida intrauterina <sup>(7)</sup>.

Durante la quinta semana de gestación comienza la hemopoyesis en el hígado, predominando los elementos eritroides sobre un pequeño número de productos granulocíticos y megacariocíticos <sup>(8)</sup>. El hígado es el principal órgano hemopoyético desde el 3º hasta el 6º mes de



**FIGURA 1.1. ETAPAS DE LA HEMATOPOYESIS EMBRIONARIA Y FETAL QUE INDICAN EL MOMENTO DE APARICION Y LA PARTICIPACION COMPARATIVA DE LOS CENTROS PRINCIPALES DE HEMATOPOYESIS<sup>(5,6)</sup>.**

---

vida intrauterina y continua produciendo elementos formes hasta la primera semana de vida postnatal. Desde el 3º mes de vida fetal también se puede detectar actividad hematopoyética en el bazo y el timo, y poco tiempo después en los ganglios linfáticos <sup>(5)</sup>.

El período mieloide de la eritropoyesis comienza durante el 3º a 4º mes de vida intrauterina y adquiere importancia cualitativa hacia el 6º mes, transfiriéndose hacia la médula ósea el principal lugar de hemopoyesis ya en los últimos 3 meses de gestación. En la 30ª semana de gestación la médula alcanza la máxima celularidad, pero el volumen de médula ocupada por tejido hematopoyético aumentando hasta el término <sup>(9)</sup>. Después del nacimiento, el tejido medular continúa expandiéndose pero sin aumento aparente de la concentración celular <sup>(5)</sup>.

En el **embrión** las células hemáticas predominantes y producidas en primer lugar pertenecen a la serie roja. Pueden aparecer dos generaciones morfológicamente diferentes de eritrocitos en el embrión en desarrollo: los eritrocitos derivados de la eritropoyesis megaloblástica primitiva (llamada así por su semejanza con los precursores eritroides de los pacientes con anemia perniciosa), y los eritrocitos derivados de la eritropoyesis normoblástica definitiva. Los eritroblastos primitivos se sintetizan predominantemente en los

lugares de eritropoyesis intravascular, y a medida que el desarrollo continúa son gradualmente reemplazados por tipos celulares más pequeños, de la serie normoblástica o definitiva. La eritropoyesis normoblástica comienza en la 6ª semana de gestación y hacia la décima semana constituye más del 90% de las células eritrocíticas circulantes <sup>(5)</sup>.

En las primeras etapas de la vida embrionaria la concentración de hemoglobina y hematies son muy bajas, comparados con las del recién nacido o el adulto. Por otra parte, los eritrocitos son muy grandes, la mayoría de ellos son nucleados y contienen grandes cantidades de hemoglobina. A medida que el feto se desarrolla aumenta el número de eritrocitos, la concentración de hemoglobina y el hematocrito, y disminuye el tamaño promedio de la célula <sup>(10)</sup>. Así, en la semana 10ª de gestación, el recuento eritrocítico oscila entre 500 y 1.500 x 10<sup>12</sup>/L. En este momento, del 5 al 10% de los eritrocitos circulantes son nucleados y el recuento reticulocitario se aproxima al 80%, el volumen celular es de 250 fL, la concentración de hemoglobina oscila entre 60 y 90 g/L y el hematocrito entre 0.20 y 0.30 L/L. En la 24ª semana de gestación la hemoglobina asciende hasta 140 g/L aproximadamente, el hematocrito es de 0.40, los hematies 3.500 x 10<sup>12</sup>/L y los reticulocitos disminuyen al 10% o menos. A partir de este momento, y hasta finalizar la



gestación se produce un lento aumento de la hemoglobina, hematocrito y hematíes <sup>(5,11)</sup> (Tabla 1.1).

### 1.2.2. CONTROL DE LA ERITROPOYESIS.

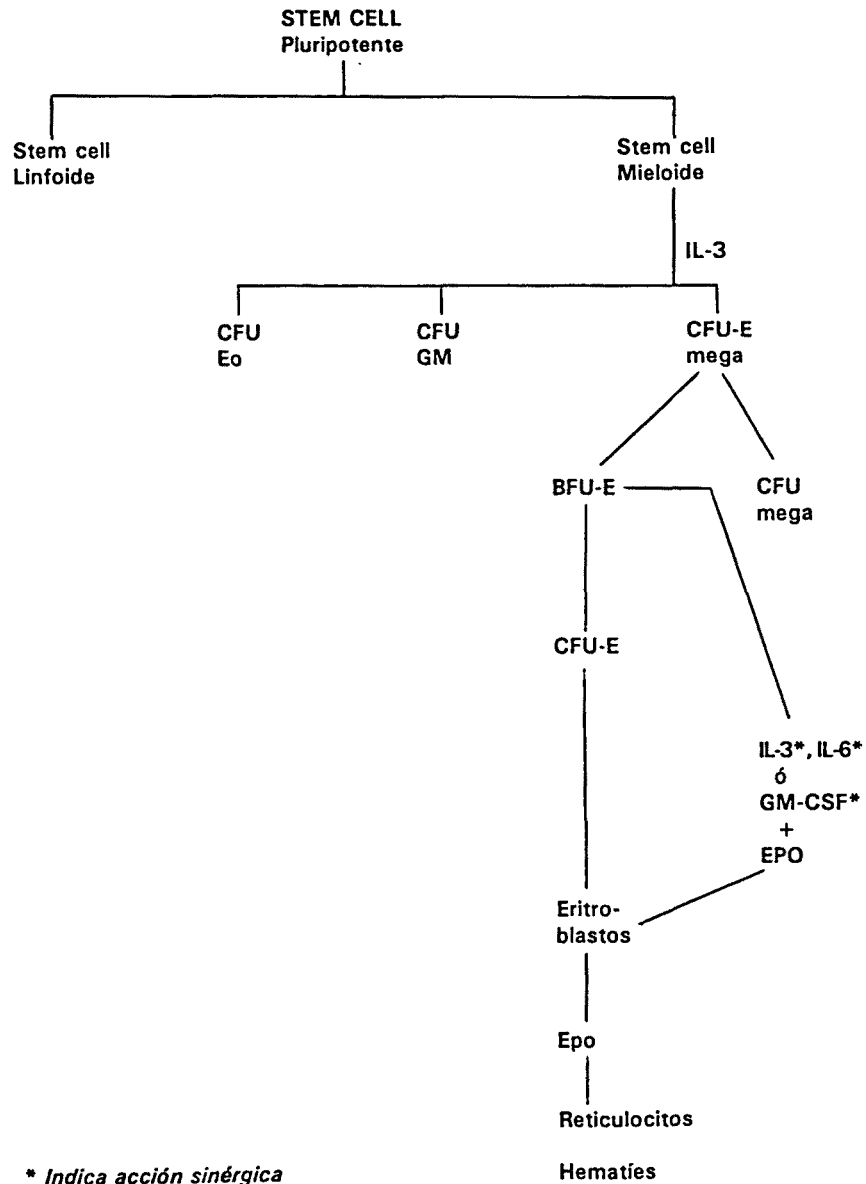
El conocimiento de los factores de crecimiento recombinantes ha transformado la hematología morfológica en un aspecto de la biología celular moderna. Los factores hematopoyéticos incluyen las interleukina 3 (IL-3), 4, 5, 6 (IL-4, IL-5, IL-6) el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), el factor estimulante de granulocitos (G-CSF), el factor estimulante de macrófagos (M-CSF) y finalmente la eritropoyetina (Epo). Todos actúan en combinación para inducir la diferenciación final de las distintas células a partir de sus progenitores específicos<sup>(12)</sup>.

Los factores que controlan la eritropoyesis en el feto y el recién nacido parecen ser similares a las del niño mayor y el adulto <sup>(6,13)</sup>. Recordando el esquema de la hemopoyesis en general, existen unas células puripotenciales o stem cells, que son el sustrato celular fundamental a partir del cual derivan todas las células sanguíneas <sup>(14)</sup>. A partir de éstas se derivan las células progenitoras precursoras, que tienen restringido su potencial de división y diferenciación hacia una línea hematopoyética en particular. Estas

<b>TABLA 1.1. VALORES PROMEDIO ERITROCITARIOS EN LA VIDA INTRAUTERINA<sup>(6,11)</sup></b>					
<b>EG (semanas)</b>	<b>Hb. (g/L)</b>	<b>Hct. (L/L)</b>	<b>Hematies (x10<sup>12</sup>/L)</b>	<b>VCM (fL)</b>	<b>Reticul. (%)</b>
12	80-100	0,33	1.5	180	40
20	110	0,37	2.5	135	20
28	145	0,45	4.0	120	10
34	150	0,47	4.4	119	5-10
>38 <42	164	0,52	4.82	110	6,7

células se ponen de manifiesto mediante cultivos in vitro, observándose colonias formadoras de eosinófilos (CFU-EOS), granulocitos y/o monocitos (CFU-G, CFU-M, CFU-GM) <sup>(15)</sup>. Los elementos en cada compartimento forman una sucesión continua de células en diferentes estadios de maduración, lo que se traduce en cambios en el fenotipo de superficie, en el tamaño, en su sensibilidad a factores de crecimiento y en el potencial proliferativo <sup>(16)</sup>.

La regulación de las stem-cells viene ejercida en parte por un sistema de "feed-back" negativo, de forma que cuanto mayor es el número de células hijas, mayor será la señal de retrocontrol negativo emitida, provocando la inhibición de las células madre. Sin embargo, la proliferación de las stem cells está también bajo control de un sistema de competencia entre factores de crecimiento estimulantes e inhibidores. Estos factores moduladores del crecimiento incluyen los actualmente denominados factores estimulantes de colonias (colony-stimulating factors o CSF), como la Epo, GM-CSF, EBPA (actividad promotora eritroide), o bien de otras interleukinas, de las cuales se conocen con mayor rapidez nuevos elementos <sup>(12,17,18)</sup>. Estas diversas interacciones de los factores de crecimiento y las células hemopoyéticas en la línea eritroide quedan reflejadas en la Figura 1.2.



\* Indica acción sinérgica

**Figura 1.2. EFECTOS SOBRE LA ERITROPOYESIS DE LA ERITROPOYETINA Y OTROS FACTORES DE CRECIMIENTO<sup>(12,18)</sup>.**

Los tipos celulares que son productores de estas sustancias son los linfocitos T, los macrófagos y monocitos, las células endoteliales y los fibroblastos. Existen otros biorreguladores que modulan la hemopoyesis: son las hormonas, interferones, etc. <sup>(19)</sup>. Pero también son necesarias proteínas (como albúmina y transferrina), elementos traza (como el selenio y el hierro), vitaminas, carbohidratos, aminoácidos, lipoproteínas y lípidos <sup>(20)</sup>.

En síntesis, la regulación de la eritropoyesis depende de las características de los precursores eritroides, de los factores de crecimiento reguladores de la hemopoyesis y de la influencia del microambiente donde se desarrollan.

#### **Características de los precursores eritroides.**

Las colonias eritroides se caracterizan por la producción de eritroblastos y por lo tanto de hemoglobina. Las células dirigidas hacia la eritropoyesis pierden rápidamente su capacidad de autorenovación y motilidad. Se distinguen 3 tipos celulares: las BFU-E-P o más primitivas, las BFU-E-M y los CFU-E, que son las inmediatamente anteriores al proeritroblasto <sup>(21)</sup>.

### **Regulación por factores de crecimiento.**

En los últimos años se ha establecido el papel que ejercen determinadas proteínas reguladoras en el proceso de la eritropoyesis. Estos factores suelen ejercer una acción multilíneal afectando también a otras líneas hemopoyéticas. Pueden considerarse los factores estimulantes y los inhibidores del crecimiento eritropoyético.

#### **a) Factores de crecimiento estimulantes.**

De forma bien caracterizada se encuentran la eritropoyetina, la IL-3 y el CSF-GM <sup>(22)</sup>. También existen hormonas que poseen una acción sobre la eritropoyesis, pero se desconoce aún su importancia definitiva. Son el factor de crecimiento Insulin-like tipo I (IGF-I) y la hormona de crecimiento <sup>(23)</sup>. Otros factores estimulantes no bien definidos son la Hemina, que parece aumentar la formación de colonias rojas en efecto sinérgico con la IL-3 <sup>(24)</sup>, el factor estimulante eritroide o "Erythroid enhancing Factor" (EEF), que posiblemente actúa en fases más tardías como el proeritroblasto <sup>(25)</sup>. La actividad potenciadora eritroide o "Erythroid Potentiating Activity" (EPA), que sería capaz de estimular tanto a los precursores eritroides primitivos (BFU-E), como a los más maduros (CFU-E), pero a diferencia de la IL-3 y del CSF-GM es específico de la línea eritroide<sup>(26)</sup>. La prostaglandina E (PGE) estimula la eritropoyesis

independientemente de su acción sobre los macrófagos y los linfocitos T <sup>(27)</sup>.

**b) Factores inhibidores del crecimiento.**

Actúan directamente o a través de la inhibición de la secreción de algún factor estimulante. Cabe destacar la isoformina ácida, producida por los macrófagos, y que inhibe directamente las CFU-GEMM, CFU-GM y BFU-E <sup>(28)</sup>. La lactoferrina, producida por los granulocitos neutrófilos, inhibe la secreción de CSF-GM directamente o por medio de la IL-1. In vivo disminuye el número absoluto de CFU-GM, CFU-GEMM, BFU-E y el porcentaje de células en ciclo celular <sup>(29)</sup>. Los interferones (IF)  $\alpha$ -2 y gamma presentan una acción compleja. Inhiben in vitro y probablemente in vivo las BFU-E, CFU-GEMM y CFU-GM, e incluso la secreción de factores de crecimiento por los monocitos y linfocitos T <sup>(30)</sup>. El factor necrosante tumoral o "Tumor necrosis factor" (TNF) inhibe la formación de colonias mieloides y eritroides. El IF gamma tiene una acción sinérgica con el TNF, posiblemente haciendo que aparezcan los receptores celulares del TNF <sup>(31)</sup>. Los factores transformadores del crecimiento  $\beta$ 1 y  $\beta$ 2 o "Transforming Growth Factors" (TGF  $\beta$ 1 ó  $\beta$ 2). El TNF  $\beta$ 1, secretado por numerosas células y por las plaquetas, es un inhibidor de los progenitores humanos y murinos eritroides, mieloides, megacariocíticos y mixtos. El TGF  $\beta$ 2 posee un

efecto inhibitor, pero más potente <sup>(32)</sup>. Otros factores aún mal caracterizados son los procedentes de medios condicionantes de cultivos leucémicos, que son capaces de inhibir el crecimiento de los precursores hemopoyéticos; entre ellos se encuentra el factor inhibitor leucémico demostrado en las leucemias mieloblásticas agudas <sup>(34)</sup>; la proteína de regulación negativa de Axelrad o "Negative Regulatory protein" (NRP) que bloquea las BFU-E, oponiéndose a la acción de la IL-3 <sup>(35)</sup>. La actividad inhibitora eritroide o "Eritroid inhibitory activity" (EIA), liberado por los macrófagos, que inhibe la diferenciación de la eritroleucemia murina producida por el virus de Friend <sup>(36)</sup>.

#### **El microambiente celular.**

Ejerce un papel importante en dos sentidos. Su componente celular es capaz de secretar muchos de los factores que regulan la hemopoyesis, pero la matriz extracelular del microambiente interviene también sobre la eritropoyesis, ejerciendo una acción de soporte. Por ejemplo, las BFU-E y las CFU-E se unen a la fibronectina de la matriz <sup>(37)</sup>.



### 1.3. ERITROPOYETINA (Epo).

La Epo parece ser el principal factor en el control de la eritropoyesis, actuando fundamentalmente como factor estimulante de los progenitores hemopoyéticos eritroides, provocando su diferenciación y maduración <sup>(38)</sup>.

En los inicios de este siglo Carnot y Deflandre <sup>(39)</sup> observaron que el suero de los animales anémicos estimulaba las hemopoyesis en animales normales. Pero fué en 1977 cuando se consiguió purificar la hormona a partir de la orina de pacientes con anemia aplásica <sup>(40)</sup>.

La identificación bioquímica de la eritropoyetina estableció que se trataba de una glucoproteína constituida por 165 aa y un 40% de carbohidratos <sup>(40)</sup>. Esta fracción carbohidratada determina su viabilidad in vivo (la asialoeritropoyetina es aclarada rápidamente), pero carece de actividad biológica intrínseca<sup>(41)</sup>. La identificación bioquímica de la eritropoyetina permitió desarrollar un radioinmunoensayo sensible y accesible <sup>(42)</sup>. Recientemente, la molécula de Epo ha sido obtenida con absoluta pureza por medio de técnicas de ingeniería genética, y se ha localizado el gen productor, por lo que ha sido posible producir en cantidades la hormona para su aplicación en ensayos clínicos <sup>(43,44)</sup>.

### 1.3.1. PRODUCCIÓN Y REGULACIÓN DE LA ERITROPOYETINA.

El lugar de producción de la eritropoyetina varía a lo largo de la vida del ser humano. Durante el período fetal se ha observado en modelos animales (fetos de oveja) que el principal lugar de síntesis es el hígado. Posteriormente tiene lugar el paso de la producción del hígado al riñón en el último período de embarazo, afianzándose durante el período neonatal, y en los mamíferos adultos, el riñón es el principal órgano responsable de su producción <sup>(45,46,47)</sup>. En el riñón se localiza la producción de eritropoyetina en las células intersticiales o en las tubulares del córtex renal. En el hígado las células productoras podrían ser tanto las células de Kupffer, como los hepatocitos, y aún quedaría un pequeño porcentaje de Epo producido por los macrófagos de la médula ósea <sup>(48)</sup>. La hipótesis de una supresión hepática de la síntesis de Epo por la mayor actividad renal en este sentido no parece estar confirmada. Se trataría más bien de un paso previsto genéticamente en el desarrollo ontogénico del nuevo ser <sup>(49)</sup>.

El principal regulador de la producción de Epo es la hipoxia, la disminución de la oxigenación de los tejidos, independientemente de su etiología <sup>(50)</sup>. La inhalación de monóxido de carbono también se asocia con un sensible incremento de la Epo <sup>(51)</sup>, así como las alteraciones de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno.

Otro factor importante es la presión parcial de oxígeno arterial. Su disminución, como sucede en las enfermedades pulmonares o cardiológicas, estimula la producción de Epo<sup>(53)</sup>. Existen también varios factores metabólicos que han demostrado alguna influencia sobre la producción de Epo. Así ocurre con la hormona de crecimiento cuyo efecto parece mediado por el factor de crecimiento insulin-like tipo I (IGF-I), incluso este último parece estimular directamente a los precursores eritroides<sup>(54)</sup>. La hipoxia disminuye la secreción de Epo<sup>(55)</sup>, al igual que una dieta pobre en proteínas, probablemente a través de un efecto mediado por las hormonas tiroideas<sup>(56)</sup>. Estas son capaces de estimular las BFU-E, mediante el efecto de los factores de crecimiento liberados por los linfocitos. Los corticoides estimulan la granulopoyesis y la eritropoyesis, pero tienen un efecto inhibitorio en la eritropoyesis del hígado fetal<sup>(57)</sup>. Los andrógenos poseen un conocido efecto directo estimulador de la eritropoyesis<sup>(58)</sup>. El cobalto provoca un estímulo sinérgico con la hipoxia, posiblemente inhibiendo la entrada de calcio a nivel celular, en relación al sensor de la hipoxia tisular<sup>(59)</sup>. La adenosina y las prostaglandinas también juegan un papel mediador en la producción de Epo<sup>(38)</sup>.

En cuanto a la cinética de la producción de la eritropoyetina en diferentes especies animales se ha comprobado que el tiempo entre

---

el estímulo hipóxico y el aumento en el suero de esta sustancia oscila entre 60 y 90 minutos y que el feto en modelos animales responde en un período de hasta 3 horas<sup>(61)</sup>. En este tiempo deben realizarse los siguientes pasos:

a) agotamiento de las reservas de oxígeno; b) señal al sensor de hipoxia y su traducción en una nueva respuesta; c) transcripción del gen de la Epo y traslación del ARN-m Epo; y d) producción de la molécula de Epo y su distribución por el organismo <sup>(38)</sup>. La eritropoyetina se sintetiza directamente en forma madura sin que existan reservas tisulares <sup>(62)</sup>.

### 1.3.2. ERITROPOYETINA EN EL PERÍODO FETAL Y NEONATAL.

La eritropoyetina también posee un papel primordial en la regulación de la eritropoyesis fetal<sup>(63,64,65)</sup>. Inicialmente fue Finne quién demostró que el feto, al menos a partir de la 38ª semana de gestación, reacciona a la hipoxia con un incremento en la producción de Epo <sup>(66)</sup>. Posteriormente, esta respuesta a la hipoxia ha sido demostrada también en el prematuro<sup>(67)</sup>. Hoy sabemos que al menos, desde la 11ª semana de gestación existe producción de Epo, sin embargo, en la fase embrionaria de la vida, la eritropoyesis parece ser independiente de la eritropoyetina<sup>(13)</sup>. Se ha comprobado

---

que en el feto humano, a medida que avanza la gestación, aumentan los niveles de Epo plasmática <sup>(65)</sup>, y lo hacen de forma independiente a la concentración plasmática de este factor en la madre<sup>(68)</sup>.

En el momento del parto la eritropoyetina en el suero del cordón umbilical puede estar afectada por factores que alteran el suministro de oxígeno a lo largo de la gestación o bien en el momento del parto <sup>(69)</sup>. Por ello, las determinaciones de Epo en sangre de cordón umbilical han sido valoradas como posibles indicadores de hipoxia fetal en diversos estudios como a continuación se expondrá.

La concentración de Epo en líquido amniótico se relaciona bien con la existente en plasma de cordón umbilical en situación basal, por lo que las determinaciones de Epo en LA pueden proveer un indicador accesible de la producción fetal de Epo y del bienestar fetal <sup>(70,71)</sup>. En las gestaciones complicadas con isoimmunización Rh, la anemia del feto provoca una situación de hipoxia tisular que se acompaña de un incremento de Epo en sangre fetal o en LA<sup>(72,73)</sup>. Esta elevación se normaliza al corregirse la anemia <sup>(65)</sup>. Por otra parte, y en el mismo sentido, los registros de frecuencia cardíaca fetal, cuando se alteran, también se asocian con un aumento en la Epo en plasma del cordón del recién nacido <sup>(74)</sup>, y también en líquido

amniótico <sup>(75)</sup>. Sin embargo, si la hipoxia fetal es muy aguda no se observan incrementos valorables en la eritropoyetina <sup>(61,76)</sup>. Cuando el aporte de oxígeno al feto está comprometido de forma crónica, como sucede en las toxemias graves, la Epo en plasma umbilical sí está elevada <sup>(70)</sup>. Esto también sucede en los recién nacidos procedentes de gestaciones complicadas con otras causas de disfunción placentaria, como postmaduros, y recién nacidos de bajo peso <sup>(5,66,77)</sup>. También se han demostrado aumentos de este factor en los recién nacidos afectados de anoxia severa intraparto y con manifestaciones neurológicas graves <sup>(78)</sup>.

Otro grupo relevante de neonatos donde se han demostrado niveles elevados de Epo en cordón son los hijos de madre diabética <sup>(5,70,79)</sup>, posiblemente por un mecanismo mediado por la hipoxia <sup>(80,81,82)</sup>, como se desarrollará más adelante.

En líneas generales, la eritropoyetina en sangre de cordón obtenida en el momento del parto refleja las condiciones prenatales, pero hay que tener en cuenta que incluso en el parto eutócico por vía vaginal puede inducir cierto grado de hipoxia fetal, como se ha observado en las determinaciones de Epo más elevadas en recién nacidos procedentes de partos vaginales respecto a las cesáreas electivas<sup>(83)</sup>.

---

Durante los primeros días de vida la concentración de Epo en el recién nacido normal, sin problemas intraparto, varía ampliamente, y no parece relacionarse directamente con los niveles de hemoglobina, hematocrito, presión arterial de O<sub>2</sub>, saturación de O<sub>2</sub> u oxígeno arterial <sup>(84)</sup>.

En el primer mes de la vida extrauterina los niveles de eritropoyetina descienden de forma acusada, siendo inferiores a los del adulto sano, a la vez que disminuyen en el mismo período las cifras de hemoglobina y reticulocitos <sup>(85)</sup>. En los neonatos con anemia de la prematuridad, este fenómeno es aún más acusado; las concentraciones en suero de Epo se relacionan inversamente con la hemoglobina, pero en niveles inferiores a los del adulto, a pesar de una disponibilidad tisular de oxígeno menor <sup>(86)</sup>. Se ha sugerido ante estos datos que la causa de la anemia de la prematuridad podría ser una inadecuada producción de eritropoyetina <sup>(87)</sup>. En los lactantes sanos, desde los 3 meses, y en los niños hasta la adolescencia, los niveles de Epo parecen ser similares a los del adulto <sup>(69,88)</sup>.

Otros datos interesantes son los que se refieren a la influencia de la placenta con la producción de eritropoyetina. En el ratón se ha demostrado la transferencia de Epo materna hacia el feto <sup>(89)</sup>, así

---

como la existencia de receptores para esta hormona en la placenta<sup>(90)</sup>. En fetos mamíferos más grandes, como el de cordero, así como en el ser humano, la Eritropoyetina no atraviesa la barrera placentaria en ningún sentido <sup>(91)</sup>. Estas observaciones pueden indicar que los pequeños fetos consiguen Epo de sus madres para controlar la eritropoyesis, mientras que los fetos de mayor tamaño requieren su propia producción hormonal para dicha función <sup>(92)</sup>. Existe por otra parte alguna evidencia de que la placenta humana puede controlar la eritropoyesis fetal por otras vías distintas de la eritropoyetina <sup>(93)</sup>.

En la gestación, aunque con grandes variaciones, se han demostrado unos niveles normales de Epo en la madre durante el primer trimestre de embarazo, incrementándose a lo largo de ésta, hasta alcanzar su pico máximo de producción hacia la 30ª semana de gestación <sup>(68)</sup>. La magnitud del incremento varía entre distintos individuos, y el estímulo que estimula la producción no se ha definido bien, pero se ha especulado que la Epo ejercería su efecto trófico para acondicionar la masa eritrocitaria materna a las nuevas demandas de este período<sup>(94)</sup>.



#### 1.4. SINTESIS DE HEMOGLOBINA EN EL FETO.

Una diferencia fundamental entre la eritropoyesis fetal, neonatal y en otras edades de la vida es el cambio en la síntesis de los diversos tipos de cadenas polipeptídicas que forman la Hb: Alfa ( $\alpha$ ), Beta ( $\beta$ ), Gamma ( $\gamma$ ), Delta ( $\delta$ ), Epsilon ( $\epsilon$ ) y Zeta ( $\zeta$ ). En el embrión humano se manifiestan inicialmente las hemoglobinas conocidas como Gower 1 ( $\zeta_2 \epsilon_2$ ) y Gower 2 ( $\alpha_2 \epsilon_2$ ) y Portland ( $\zeta_2 \gamma_2$ ) que hacia la semana 12ª de la gestación han desaparecido, para ser reemplazadas por la principal hemoglobina a lo largo de toda la vida intrauterina: la hemoglobina fetal (HbF) ( $\alpha_2 \gamma_2$ )<sup>(95)</sup>. Existen dos variedades de cadenas gamma:  $\gamma$ -G(136 glicina) y  $\gamma$ -A(136 alanina), que se encuentran en una proporción 3:1 en sangre de cordón, al revés que en edades posteriores. Una cuarta parte de la HbF presenta acetilación del extremo terminal NH<sub>4</sub> de la cadena gamma y se denomina HbF<sub>1</sub>. No se conoce su utilidad aunque este tipo se ha implicado en el transporte de CO<sub>2</sub> en el feto<sup>(96)</sup>.

La HbF posee características que la hacen idónea para la función de transporte de O<sub>2</sub> en la vida intrauterina. A diferencia de la HbA presenta una menor afinidad por el 2,3-DPG, fosfato inorgánico modificador de las propiedades de la hemoglobina, lo que produce un desplazamiento de la curva de afinidad por el oxígeno a la

---

izquierda disminuyendo el valor P 50 de la sangre fetal (tensión de oxígeno a un 50% de saturación) que es de 19 a 21 mm de Hg, aproximadamente 6 a 8 mm Hg inferior que el de la sangre adulta normal. Esto quiere decir que esta Hb alcanza una saturación de O<sub>2</sub> elevada a niveles de pO<sub>2</sub> bajas, que es la situación que existe en la vida intrauterina. Así la sangre materna arterial llega a la placenta con una pO<sub>2</sub> de alrededor de 100 mm, saturada en un 98% a un pH de 7,4. En los espacios vellosos el pH desciende y la pO<sub>2</sub> es de 45 mm, lo que representa una saturación de casi un 75%. La sangre que retorna al feto lo hace con una pO<sub>2</sub> de aproximadamente 30 mm, lo que representa una saturación del 70%, a un pH de 7,4. La pO<sub>2</sub> en los tejidos fetales puede ser tan baja como 15 mm y tiene lugar una extracción de un 50% de O<sub>2</sub> de la hemoglobina <sup>(51,96,97,98)</sup>. El feto puede lograr esta liberación de O<sub>2</sub> gracias a la inclinación vertical de la curva de disociación de la Hb F a valores bajos de pO<sub>2</sub> y cuando disminuye el pH. Igualmente, posee una gran afinidad por el oxígeno en situación inversa. Otro mecanismo de defensa que posee el feto para lograr una mayor liberación de O<sub>2</sub> a los tejidos es aumentar la concentración de hemoglobina, por ello las cifras de hematocrito son superiores en esta época de la vida, como se comentará más adelante <sup>(5)</sup>.

Desde la 8ª a la 30ª semana de gestación, alrededor del 90% de la hemoglobina sintetizada es Hb F, comenzando a disminuir su porcentaje a las 32-36 semanas de edad gestacional, aumentando la proporción de Hb A <sup>(99)</sup>, de forma que en el momento del parto a término (40 semanas) la Hb F posee un porcentaje en sangre de cordón que oscila entre 50 y 85%, la Hb A 15-40% y la A2 <1.82, Hb Bart <0.52 <sup>(96)</sup>. Es decir, que el nivel de Hb F en sangre de cordón depende de la edad gestacional en la que es determinada <sup>(5)</sup>. Después del crecimiento comienzan a declinar los niveles de Hb F en sangre periférica, siendo alrededor del 10 al 15% hacia los 4 meses de vida, progresando la disminución hasta alcanzar a los 2 años de vida los niveles del 2% similares a los del adulto <sup>(13)</sup>.

El mecanismo regulador de la transición de la síntesis de cadenas globínicas  $\gamma$  a  $\beta$  podría tener relación con un cambio en la expresión génica en el cromosoma 11, que estaría controlado por un reloj biológico inherente a la stem cell eritroide. Sin embargo, los factores que modulan esta transmisión no han sido identificados definitivamente <sup>(100,101)</sup>.

En algunas situaciones de estrés eritropoyético intenso en la vida postnatal puede observarse una producción aumentada de la Hb fetal. Este fenómeno se debe a que progenitores inmaduros son

forzados a entrar en vías de diferenciación terminal, antes que a seguir su vía de maduración, que sería lo habitual, por lo que los eritrocitos resultantes contienen mayor cantidad de Hb F <sup>(101,102,103)</sup>. En este sentido se ha estudiado el efecto de la eritropoyetina en la síntesis de Hb F, consiguiéndose in vivo un gran incremento en la síntesis de esta hemoglobina en primates a los que se administraron dosis elevadas, en bolus, de este factor<sup>(104)</sup>. Dicho efecto parece haberse conseguido por un efecto directo de la eritropoyetina que modifica la cinética eritroide, y no por alteración en el programa genético de las globinas <sup>(101,104)</sup>. Estos resultados son prometedores para el tratamiento de pacientes con hemoglobinopatías, como la anemia de células falciformes, que se podrían beneficiar por el aumento de Hb F en sus hematíes<sup>(105)</sup>.

Existen situaciones fetales que aumentan la proporción de Hb F una vez determinada en sangre de cordón. Así sucede en los recién nacidos afectados de retraso de crecimiento intrauterino <sup>(106)</sup>, insuficiencia placentaria <sup>(107)</sup>, anoxia materna crónica (insuficiencia cardíaca, asma bronquial grave, anemia severa) <sup>(108)</sup>; hijos de madres fumadoras y en los recién nacidos hijos de madre diabética, los cuales presentan una tasa de Hb F significativamente superior respecto a recién nacidos de su misma edad gestacional, como se comentará más adelante <sup>(109,110,111)</sup>.

### **1.5. POLIGLOBULIA EN EL RECIEN NACIDO.**

El recién nacido presenta un estado de plétora sanguínea y de eritropoyesis activa, que no se encuentra de forma fisiológica en ninguna otra época de la vida <sup>(5,112)</sup>. Se trata de un fenómeno adaptativo adicional a las condiciones habituales de hipoxia intrauterina, ya que la saturación de oxígeno en sangre fetal es sólo del 50% <sup>(113)</sup>. La mayoría de los recién nacidos están poliglobúlicos si se aplicaran los criterios del adulto o del niño mayor. Por este motivo la definición de poliglobulia o policitemia patológica en el recién nacido se considera cuando éste presenta un hematocrito (Hct) igual o superior al 65% (0.65 L/L), o bien una hemoglobina (Hb) igual o superior a 220 g/L en sangre venosa central, en los primeros días de vida <sup>(114,112)</sup>. Por encima de dichas cifras aparece el síndrome de hiperviscosidad <sup>(115)</sup>.

El diagnóstico debe hacerse en sangre venosa central, ya que los valores de Hct y Hb en sangre capilar pueden ser superiores, pero con una gran variabilidad. Por otra parte, hay que tener en cuenta que en las primeras 4 a 12 horas de vida aumentan en condiciones normales los parámetros eritrocitarios <sup>(114)</sup>.

La incidencia de policitemia neonatal varía en los diversos estudios del 1 al 5% de los recién nacidos vivos, con influencias según la edad gestacional, ya que es algo menor en el prematuro. Así mismo se modifica en función de la altura sobre el nivel del mar en que se produjo la gestación, siendo mayor en las altitudes, mientras que a nivel del mar oscila entre el 1.4 al 2.7% <sup>(116,117)</sup>. En nuestro medio, en el Servicio de Neonatología del Departamento de Pediatría del Hospital Clínico, la incidencia en los últimos 7 años ha sido del 2.86% sobre 11.810 recién nacidos vivos <sup>(118)</sup>.

La etiología comprende dos categorías principales: poliglobulia activa o pasiva <sup>(114)</sup>. La forma activa de policitemia se observa en circunstancias en las cuales el feto produce cantidades excesivas de eritrocitos intraútero en respuesta a diversos estímulos de la eritropoyesis, siendo el principal de ellos la hipoxia. La forma pasiva se observa cuando el neonato recibe una transfusión de eritrocitos. En la Tabla 1.2 se ilustran las diversas causas de policitemia neonatal.

En la mayoría de los casos de poliglobulia activa la causa fundamental es la hipoxia fetal secundaria a insuficiencia placentaria o a hipoxia materna <sup>(113)</sup>. En estos casos se demuestra un aumento de la producción de Epo fetal <sup>(65,77)</sup>. Este tipo de poliglobulia se

**TABLA 1.2. ETIOLOGIA DE LA POLIGLOBULIA EN EL RECIEN NACIDO<sup>(5,113)</sup>**

**1) Aumento de la eritropoyesis intrauterina**

**A) Hipoxia intrauterina \***

Disfunción placentaria

Retraso de crecimiento intrauterino

Postmaduros

Toxemia materna

Tratamiento materno con propanolol

Madre fumadora

Enfermedad cardíaca o pulmonar materna

Exposición a clima de altitud

**B) Causas endocrino-metabólicas**

Diabetes materna\*

Tirotoxicosis neonatal

Hiperplasia suprarrenal congénita

**C) Otras causas**

Trisomias 13, 18, 21\*

Síndrome de Beckwith\*

**2) Transfusión de eritrocitos**

Ligadura tardía del cordón umbilical

Transfusión materno-fetal

Transfusión feto-fetal

**3) Idiopáticas**

\* Indica niveles elevados de Epo

---

observa principalmente en recién nacidos afectados de retraso de crecimiento intrauterino y en postmaduros, pero también se produce en el hijo de madre diabética <sup>(79)</sup>. En todos estos casos, la poliglobulia se acompaña de otros signos de eritropoyesis activa, como un elevado número de reticulocitos y de hematíes nucleados en sangre periférica <sup>(114)</sup>.

En los casos secundarios a transfusión de hematíes, la causa más frecuente es la ligadura tardía del cordón umbilical. La transfusión materno fetal se comprueba al demostrar eritrocitos maternos en sangre fetal y una concentración de Hb F inferior a la esperada por su edad de gestación. La transfusión feto fetal puede sospecharse al existir un gemelo poliglobúlico y otro anémico. En los casos de poliglobulia secundaria a transfusión no se encuentran signos de eritropoyesis activa ni ascenso en las cifras de Epo <sup>(119)</sup>.

La fisiopatología de la poliglobulia viene explicada porque cuando el hematocrito es superior a 65% se produce el fenómeno de la hiperviscosidad. Esta depende de 3 factores: el hematocrito, la deformabilidad de los eritrocitos y de la viscosidad plasmática. De todos ellos, el factor más importante es el hematocrito, aunque cabe recordar que los hematíes neonatales son menos deformables que los del adulto. La relación entre viscosidad y hematocrito es



---

lineal en valores de Hct sobre 0.60 a 0.65, pero a partir de éstos aumenta exponencialmente <sup>(115,120)</sup>.

Las manifestaciones clínicas en la poliglobulia dependen de los fenómenos de hiperviscosidad en los grandes vasos, y se acentúan aún más en la microcirculación. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son: aspecto pletórico, taquipnea, letargia e irritabilidad, mioclonias. Como alteraciones de laboratorio, además de los valores eritrocitarios aumentados y de la existencia de cifras superiores de reticulocitos y formas eritroides inmaduras en los casos de poliglobulia activa, cabe destacar trombocitopenia, hipocalcemia, hipoglucemia, así como hiperbilirrubinemia, ésta como resultado de la ruptura de hematíes. El flujo cerebral se reduce y aumenta la presión en arteria pulmonar <sup>(112,114-116,121)</sup>. Es posible que algunos signos de afectación del SNC se deban a la acción combinada de anomalías metabólicas como la hipoglucemia e hipercalcemia junto con los fenómenos de hiperviscosidad en la circulación cerebral<sup>(121,122)</sup>. Como complicaciones pueden desarrollarse taquipnea transitoria, insuficiencia cardíaca congestiva, convulsiones, hemorragias intracraneales, priapismo, gangrena de zonas acras, enterocolitis necrotizante, trombosis venosa renal e insuficiencia renal aguda <sup>(112,114)</sup>. Hasta un 40% de los casos, especialmente los que asocian hipoglucemia, muestran secuelas

---

psicológicas y motoras a largo plazo<sup>(122,123)</sup>. Por otra parte, hasta un 15% de los recién nacidos con poliglobulia están asintomáticos<sup>(116)</sup>.

Aunque se produce cierta controversia sobre el tratamiento de los recién nacidos asintomáticos<sup>(114)</sup>, existe unanimidad acerca de que los recién nacidos con poliglobulia sintomática deban tratarse mediante exanguinotrasfusión parcial<sup>(114,123,124)</sup>. Esta es una técnica cruenta, con una mortalidad cercana al 1%<sup>(125)</sup>. Consiste en la extracción isovolémica de sangre del recién nacido, para ser repuesta con fracción de proteínas plasmáticas. Cuando se logra descender el hematocrito por debajo de 0.60 se normaliza habitualmente la clínica<sup>(114)</sup>.

### **1.6. RECIEN NACIDO HIJO DE MADRE DIABETICA.**

A grandes rasgos pueden diferenciarse dos grupos de diabetes mellitus: La diabetes tipo I, insulino dependiente y la diabetes tipo II no insulino dependiente. Se admite un tercer tipo, de menor trascendencia epidemiológica constituido por formas asociadas a distintos síndromes <sup>(126)</sup>. La prevalencia de estos dos tipos de diabetes varía según las poblaciones estudiadas y la metodología empleada en los distintos estudios. Para la diabetes tipo II se acepta una prevalencia entre el 1 al 4 por ciento en las sociedades occidentales, mientras que para el tipo I la prevalencia en el grupo de edad comprendido entre 20 y 40 años oscila entre el 2.9 y el 3.8 por mil, con una prevalencia del 4.1 por mil en el grupo de edad comprendido entre 40 y 50 años <sup>(128)</sup>. Desde la introducción de la insulina exógena en el tratamiento de la diabetes la proporción de mujeres diabéticas tipo I que alcanzan la edad fértil ha aumentado y seguirá aumentando de forma importante. A este grupo se añade el constituido por las diabéticas tipo II de inicio precoz y un tercer tipo de diabetes que se manifiesta durante el embarazo, la diabetes gestacional, sin duda el más frecuente, con lo que la incidencia de gestaciones asociadas a uno u otro tipo de diabetes oscila entre el 1 y el 3% <sup>(129-132)</sup>.

---

A esta elevada incidencia se añade la importante morbi-mortalidad manifestada por el hijo de madre diabética (HMD), superior al 50% y alrededor del 2%, respectivamente, a pesar de los avances en el cuidado perinatal en los últimos 20 años <sup>(133)</sup>. Esta patología queda reflejada en la propia estadística del Servicio, que está expuesta en el siguiente apartado.

#### **1.6.1. ESTUDIO RETROSPECTIVO SOBRE EL TIPO DE MADRE DIABÉTICA.**

Antes de establecer las hipótesis de trabajo, diseñar el protocolo experimental del presente estudio y de otros que lo precedieron, era preciso revisar la dimensión del problema del recién nacido hijo de madre diabética en nuestro ambiente, y en concreto en el centro en el que se ha llevado a cabo, el Hospital Clínico de Barcelona. Para ello hemos realizado un estudio retrospectivo que comprende los años 1980-1985 y cuyos resultados más relevantes son expuestos a continuación<sup>(134)</sup>.

Como puede apreciarse en la Tabla 1.3, ha ocurrido un evidente descenso en la cifra de recién nacidos vivos a lo largo de los años del estudio inicial y hasta el año 1991<sup>(118)</sup>. No obstante, la proporción de recién nacidos hijos de madre diabética se mantiene

**TABLA 1.3. ESTADISTICA ASISTENCIAL DEL SERVICIO DE NEONATOLOGIA DE LA SUBDIVISION DE PEDIATRIA. HOSPITAL CLINICO. BARCELONA<sup>(118,134)</sup>**

Año	1980	1981	1982	1983	1984	1985
RN vivos	2656	2501	2695	2575	2480	2247
RN patológicos	879	901	1006	1100	1063	955
RN HMD	37	50	51	38	58	53
% HMD por RN vivos	1.4	1.99	1.89	1.47	2.33	2.35

Año	1986	1987	1988	1989	1990	1991
RN vivos	1786	1598	1749	1572	1560	1340
RN HMD	33	35	47	42	43	52
% HMD por RN vivos	1.85	2.19	2.69	2.67	2.76	3.88

---

constante situándose sobre el 3.8% en el año 1991. La edad gestacional (EG) de los 287 recién nacidos hijos de madre diabética estudiados hasta el año 1985 presentó una media de 38.67 semanas con una desviación estándar (DE) de 1.85 semanas. Su distribución fue del 15.8% de pretérminos (EG < 37 semanas), un 80.6% de recién nacidos a término (EG de 37 a 42 semanas) y un 3.6% de post términos. La prueba de Kolmogorow-Smirnov resultó con un valor Z de 2.17, lo que permite rechazar la hipótesis de que la distribución es normal con una  $p < 0.0001$ . El coeficiente de asimetría (sesgo) es de -0.636, indicando una desviación de la curva hacia la izquierda, donde residen las edades gestacionales inferiores. El peso siguió una distribución normal (K-S  $z = 0.957$ ,  $p = 0.319$ ) con una media de 3450 gr y una DE de 637 gr. En cuanto a la adecuación del peso para la edad gestacional destaca el elevado porcentaje de RN con peso elevado para su edad gestacional, 29%, frente a un 65.8% de peso adecuado y un 5.4% de bajo peso para su edad gestacional. La distribución en función del sexo fue de 56.8% varones y 42.2% hembras. Respecto al tipo de diabetes se utilizó la clasificación de White <sup>(135,136,137)</sup>, siendo el grupo A el más frecuente (76.4%), seguido del B (13.9%), C (5.2%), D (4.2%) y otros (0.7%).

---

En cuanto a la morbilidad, los resultados obtenidos muestran que sigue siendo la hipoglucemia la complicación más frecuente 22.3%, seguida por la ictericia 20.3%, la poliglobulia 18.5% de los casos, el síndrome de dificultad respiratoria y la hipocalcemia, ambos con un 7.3%, y por último la miocardiopatía hipertrófica 4.5%, si bien no se realizó ecocardiografía en todos los casos.

En cuanto a complicaciones perinatales se aprecia un gran número de partos distócicos (49.5%), de los cuales el 34.5% corresponden a cesáreas electivas y el 21.8% a cesáreas urgentes. Se observó sufrimiento fetal en un 15.7% (según el pH de arteria umbilical) y un 9.8% de traumatismos intraparto.

**Malformaciones congénitas** han sido descubiertas en el 9.8% de los casos, incluyendo tanto las malformaciones mayores, aquellas que pueden comprometer la vida del paciente o la calidad de la misma y requieren en la mayoría de los casos tratamiento médico o quirúrgico, como las menores; observándose una mayor incidencia de malformaciones asociadas (50%), y por tanto más graves, en los hijos de madre diabética insulino dependiente (HMD-I) que en los HMD gestacional (HMD-G). Las malformaciones presentes han sido: menores 57.1%, cardíacas 32.1%, esqueléticas 25%, genitourinarias 21.4%, del SNC 10.7% y otras en el 14.3%. La

---

incidencia de los distintos trastornos neonatales, según el tipo de gestante diabética, se expone en la Tabla 1.4.

La mortalidad perinatal (que excluye los abortos), fue del 2.43% y se desglosa en dos apartados, uno es la mortalidad intraútero (desde las 26 semanas hasta el final de la gestación) de 1.43%, y el otro es la mortalidad postparto que ha sido del 1%. Esta elevada morbi-mortalidad condiciona que gran parte de estos recién nacidos se ingresen en las unidades neonatales según distintos protocolos asistenciales.

La importancia del tema queda reflejada en la bibliografía, con destacadas aportaciones en Francia<sup>(136-139)</sup>, Italia<sup>(142)</sup>, Inglaterra<sup>(143,144)</sup>, Estados Unidos de Norteamérica<sup>(129,145-147)</sup>, Países Nórdicos<sup>(148,149)</sup>, Antigua República Democrática Alemana<sup>(150)</sup> y República Federal Alemana<sup>(151)</sup>. En nuestro país también existen algunos trabajos<sup>(152,153)</sup>.



<b>TABLA 1.4. PATOLOGIA NEONATAL Y TIPO DE DIABETES MATERNA<sup>(134)</sup></b>			
	HMD-G	HMD-I	Significación
Edad gestacional (semanas)	39.08	36.99	0.001
Peso (gr)	3.445	3.364	NS
Adecuación peso (%)	61.7	60.9	NS
Sufrimiento fetal (%)	13.8	21.7	0.01
Traumatismo del parto (%)	8.7	13.0	NS
Malformaciones (%)	10.1	8.7	NS
Hipoglucemia (%)	20.6	27.6	NS
Poliglobulia (%)	10.7	27.5	0.0003
Hipocalcemia (%)	3.7	18.8	0.0001
Ictericia (%)	14.7	40.6	0.0001
Distress respiratorio (%)	5.5	13.0	0.03
Patología asociada (%)	14.7	27.6	0.025

## **1.7. ADAPTACION METABOLICA MATERNO-FETAL A LA GESTACION.**

Interesa recordar, aún de forma somera, cuáles son los cambios metabólicos que se producen tanto en una gestación normal, como en la complicada por la diabetes mellitus.

### **1.7.1. ADAPTACIÓN METABÓLICA AL EMBARAZO NORMAL.**

Es un aspecto bastante bien conocido, que debe ser tenido en cuenta para distinguir mejor lo que puede suceder en una gestación diabética. El aumento rápido de la gonadotrofina coriónica humana (HCG), un incremento progresivo de progesterona, y a un ritmo menor, de estrógenos, caracterizan a la primera mitad del embarazo <sup>(154)</sup>. En consecuencia, aparecen cambios metabólicos, con hiperplasia de las células de los islotes de Langerhans, por acción de la progesterona y estrógenos <sup>(155)</sup>. Se establece así un estado de hiperinsulinismo, con aumento de la ratio insulina/glucagón y aumento de la sensibilidad periférica a la acción de la insulina, que determina un anabolismo facilitado, con aumento de la glucogenogénesis y la utilización periférica de la glucosa, disminución de la neoglucogénesis y glucemia en ayunas. A nivel

del metabolismo lipídico, el hiperinsulinismo provoca una estimulación de la lipogénesis e inhibición de la lipólisis, favoreciendo la hipertrofia de los adipocitos y el depósito de grasas<sup>(156)</sup>.

Así como esta primera mitad del embarazo obedece a la presencia de un nuevo ser con crecientes, pero bajos requerimientos nutricionales, la segunda mitad de la gestación se caracteriza por la presencia de un feto con aumento rápido de sus necesidades nutricionales. En este momento aparece una concentración creciente de la hormona lactógeno placentario o hormona coriónica somatotropa (HCS), se mantienen niveles elevados de estrógenos y progesterona pero aparece un aumento en la concentración de otras hormonas como la prolactina, el cortisol libre y el glucagón<sup>(154)</sup>. Los recursos biológicos para que el feto no sufra carencias nutricionales incluyen el transporte facilitado de glucosa, el aporte activo de aminoácidos a través de la placenta, así como una situación de resistencia periférica a la acción de la insulina<sup>(154,156)</sup>.

Por todo ello, en una situación de ayuno, ocurre un estado de "desnutrición acelerada": aumento de los cuerpos cetónicos y ácidos grasos libres, incremento hepático de la neoglucogénesis y disminución del glucógeno hepático, al tiempo que la resistencia

aumentada a la acción periférica de la insulina disminuye el consumo de ésta por la madre <sup>(157)</sup>.

En la situación post ingesta se produce un estado que ha sido denominado de "anabolismo facilitado", en el que el aporte brusco de glucosa y aminoácidos provoca un incremento superior y más prolongado de sus concentraciones plasmáticas, favoreciendo el aporte de nutrientes al feto, mientras que la embarazada apoya su metabolismo energético mediante los cuerpos cetónicos y ácidos grasos libres, ya que la utilización periférica de la glucosa está dificultada por la resistencia a la acción de la insulina <sup>(158)</sup>.

### **1.7.2. METABOLISMO Y CRECIMIENTO FETAL.**

La nutrición fetal viene condicionada por una oferta de metabolitos maternos al feto que deben alcanzar una calidad y cantidad adecuadas en todo momento a sus necesidades, y por otra parte, todo el metabolismo fetal actúa en un sentido anabólico <sup>(157)</sup>.

En el período de blástula se supone que la nutrición se produce por inhibición y difusión pasiva en la mucosa endometrial. El embrión obtiene los nutrientes por intercambio con la sangre materna

---

mediante la placenta. En el feto se produce un crecimiento máximo con maduración funcional de éste y de la placenta <sup>(1)</sup>.

La placenta es un órgano activo, con metabolismo propio, que ejerce de membrana selectiva para el intercambio de nutrientes. Así, el intercambio de proteínas y polipéptidos es nulo, y prácticamente se limita a la IgG de la madre al feto, mientras que los principales nutrientes del feto, los aminoácidos y la glucosa la atraviesan por un mecanismo de transporte activo y a favor de gradiente facilitado, respectivamente. La placenta también es un órgano endocrino, capaz de sintetizar sus propias hormonas y secretarlas hacia el territorio materno <sup>(2,159)</sup>.

Las vías metabólicas funcionantes en el feto permiten una destacada actividad en los principios inmediatos: a) síntesis de triglicéridos a partir de glicerol y ácidos grasos libres (lipogénesis), b) síntesis de polisacáridos a partir de la glucosa y oxidación de la glucosa, vía lactato y piruvato (obtención de energía), c) síntesis de polipéptidos partiendo de aminoácidos (síntesis protéica) <sup>(160)</sup>.

La importancia de la glucosa en el metabolismo fetal hace obligado hablar del **páncreas endocrino fetal**. La diferenciación de éste comienza en la novena semana de vida intrauterina con aparición de

células A productivas de glucagón, sigue con la detección de células B, productoras de insulina unas dos semanas después y posteriormente aparecen las células D (somatostatina) y PP (polipéptido pancreático)<sup>(161)</sup>.

Sobre la función de la célula B en la vida intrauterina también sucede, como en otras edades, que el máximo estímulo es la glucosa, tanto como desencadenante de la secreción de insulina, como estimulante de la biosíntesis de proinsulina <sup>(162)</sup>. Recordemos así mismo que la secreción de insulina parte de la pre-proinsulina (proteína de elevado peso molecular codificada por un gen localizado en el cromosoma 11), que pasa a proinsulina, y a su vez se escinde en C-péptido e insulina <sup>(162)</sup>. El páncreas del feto es capaz de responder a la hiperglucemia crónica entre las semanas 15 y 20 de gestación <sup>(161)</sup>. También se ha demostrado sensibilidad de la célula A fetal a la adrenalina y a la arginina entre la semana 8 y 20, no encontrándose sensibilidad en este período a la hipoglucemia. Otro estímulo para la secreción de glucagón fetal es la hipoxia y las situaciones que conducen al stress <sup>(161)</sup>.

Hay que recordar por otra parte, que la insulina es considerada unánimemente como el principal factor hormonal de crecimiento en el feto <sup>(163)</sup>.

Las somatomedinas, también importantes, dependen en este período de la vida más de la misma insulina que de la hormona de crecimiento, que en el feto apenas interviene en el crecimiento fetal. De las somatomedinas se conocen bien el IGF-I (Insulin Growth Factor tipo I) y el IGF-II (Insulin Growth Factor tipo II) <sup>(164)</sup>. El glucagón no parece ejercer un efecto directo sobre el crecimiento, pero su función debe tenerse en cuenta por regular la concentración de glucosa, el metabolito fetal más importante bajo un punto de vista nutritivo <sup>(161)</sup>. Existen otros factores de crecimiento que actúan a nivel local, como el factor de crecimiento epidémico, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento de fibroblastos <sup>(165)</sup>. Pero todo este apartado sería sólo un aspecto, ya que existen muchos factores que regulan el crecimiento fetal, tanto maternos, (tóxicos, patología materna, ambientales), placentarios (flujo sanguíneo, superficie de intercambio), como fetales (dotación genética)<sup>(166)</sup>.

En resumen, la situación endocrino-metabólica fetal tiene por finalidad no sólo su crecimiento y desarrollo, sino la adaptación a la crisis metabólica neonatal, que va a ocurrir con el parto. Es éste un período crítico en el cual el neonato, en las primeras horas de vida, debe obtener la energía a partir de los depósitos acumulados en la última parte del embarazo, gracias a diversos mecanismos

endocrino-metabólicos. Entre ellos se cuentan: a) Cantidad de reservas energéticas suficientes, b) actuación de las hormonas de contraregulación frente al influjo insulínico dominante en el feto, c) disponibilidad de los receptores hormonales, d) microambiente celular adecuado, e) aporte exógeno de nutrientes <sup>(167)</sup>.

### **1.7.3. ADAPTACIÓN METABÓLICA A LA GESTACIÓN DIABÉTICA.**

Durante la gestación pueden presentarse dos tipos de diabetes mellitus: a) la **diabetes gestacional**, que es aquella inducida por el embarazo, diagnosticada durante el mismo, y que desaparece tras el parto, y b) la **diabetes insulínica**, que requiere la administración de insulina endógena para su control. Esta clasificación resulta insuficiente y se realizaron otras más complejas, una de las primeras fue la de Priscilla White, que valora principalmente la antigüedad de la enfermedad y las complicaciones derivadas, aunque posteriormente fue revisada <sup>(135,136,168)</sup>. Una nueva clasificación fue la propuesta por la comisión "National Diabetes Data Group", del National Institute of Health (USA), atendiendo más a las características clínicas y terapéuticas <sup>(169)</sup>, que considera tres tipos de diabetes: a) diabetes tipo I, que incluye a la juvenil e insulínica; b) diabetes tipo II, que corresponde a la diabetes tipo adulto, por resistencia periférica a la acción de la



insulina y c) gestacional, la que aparece durante el embarazo y desaparece tras el parto, aunque hasta en un 50% de los casos pasa a ser de tipo II. Posteriormente se subdividió en 3 grupos: A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> y B<sub>1</sub> según las glucemias basales <sup>(170)</sup>.

Lo que es evidente es que el estado de insulino resistencia generado por el embarazo supone una demanda adicional al páncreas endocrino en la secreción de insulina; este sobreesfuerzo no puede realizarlo la mujer diabética. En pacientes con diabetes tipo I se incrementan las necesidades de insulina, especialmente a final del tercer trimestre. En la diabetes tipo II la producción basal de insulina está ligeramente elevada, pero el pico postprandial de insulina endógena es escaso y aparece retrasado <sup>(155)</sup>.

Muchas de las alteraciones propias del embarazo se acentúan con la diabetes. Al inicio de la gestación, las diabéticas tipo I experimentan dificultad para la glucorregulación, con hipoglucemia y tendencia a la cetosis, mientras que en el tercer trimestre, aunque estabilizan las glucemias, son superiores a las embarazadas no diabéticas, mientras que las insulinemias muestran los valores más elevados. Las diabéticas tipo II y gestacionales presentan alteración en la glucorregulación hacia el segundo o tercer trimestre, requiriendo control con insulina exógena y dieta, respectivamente <sup>(133)</sup>.

---

Las diabéticas gestantes de ambos grupos presentan glucemias superiores a las gestantes no diabéticas tras la ingesta y en el ayuno nocturno, y así mismo, tiene lugar una oscilación glucémica brusca y de mayor amplitud que en la gestación normal, aunque también existen otros trastornos del metabolismo energético <sup>(155)</sup>.

#### **1.7.4. REPERCUSIÓN EN EL FETO DE LA GESTACIÓN DIABÉTICA.**

El hijo de madre diabética ha sido denominado de forma repetida como un experimento de la naturaleza por tratarse de un ser que a lo largo de su crecimiento y desarrollo intrauterino se relaciona con un medio ambiente diferente al de una gestación normal. Frente a esta anomalía, el embrión y el feto no permanecen pasivos, sino que generan una respuesta adaptativa al medio extraño, para llegar a otro nivel de homeostasis. Sin embargo, al nacer, es cuando se hace manifiesta la enfermedad <sup>(171)</sup>.

Por parte del **excesivo aporte de nutrientes al feto** se produce el fenómeno de la macrosomía y el hipercrecimiento. Tanto la glucosa, los ácidos grasos libres, los cuerpos cetónicos y los aminoácidos neoglucogénicos se encuentran aumentados en el plasma de la gestante diabética, lo que condiciona un flujo aumentado al feto de los tres primeros metabolitos, ya que la transferencia de

aminoácidos tiene lugar a través de un mecanismo de transporte activo no dependiente de la concentración materna <sup>(159)</sup>. La glucosa estimula la síntesis y secreción de insulina y ésta potencia la acción de la glucosa. Estos datos llevaron a Pedersen a formular la hipótesis del binomio hiperglucemia-hiperinsulinismo como causa de la macrosomía fetal del hijo de madre diabética <sup>(172)</sup>. También el problema de las malformaciones se ha relacionado con el excesivo aporte de nutrientes, postulándose que la hiperglucemia del feto en el primer trimestre de la gestación, tanto como las hipoglucemias bruscas y el aumento en la concentración de cuerpos cetónicos, podrían estar implicados en la patogenia de las malformaciones <sup>(173)</sup>.

El efecto más importante del hiperinsulinismo fetal es la hipoglucemia, que constituye la complicación más frecuente, encontrada, como así mismo en nuestro estudio retrospectivo. La poliglobulia del recién nacido HMD parece ser secundaria a una hipoxia crónica intraútero, se acompaña de un aumento de eritropoyetina y se relaciona con una excesiva desaturación en la sangre arterial en el lecho capilar, como consecuencia del aumento del ritmo metabólico, en parte facilitado por la hiperinsulinemia <sup>(79,174)</sup>, como será discutido con detalle más adelante. Otros problemas del HMD se relacionan con la poliglobulia, como la ictericia a través de un exceso de hemólisis no compensado;

también los fenómenos tromboembólicos se relacionan con la poliglobulia a través de un aumento de la viscosidad y de la agregabilidad plaquetaria por disminución de la PGI<sub>2</sub>, con aumento relativo del tromboxano TXA<sub>2</sub>, relacionado con un bloqueo en la síntesis de prostaglandinas inducido por la insulina <sup>(175)</sup>.

El aumento en la incidencia de enfermedad de membrana hialina en los HMD y su aparición en edades gestacionales más avanzadas se ha relacionado también con el hiperinsulinismo, a través de un déficit en la síntesis de fosfatidilglicerol, mediado por la insulina, al inhibir la incorporación de colina a la lecitina. También la hiperglucemia, a través del bloqueo en la movilización del glucógeno pulmonar facilita de forma directa la aparición de enfermedad de la membrana hialina en el HMD <sup>(176)</sup>.

El efecto de los cuerpos cetónicos sobre el feto ya se comentó en la patogenia de las malformaciones, pero también se ha relacionado con deficiencia mental posterior, posiblemente ligados a episodios de descompensación cetoacidótica<sup>(177)</sup>. La hipoglucemia fetal es consecuencia directa de la materna. Está bien documentada la bradicardia fetal coincidiendo con episodios de hipoglucemia materna como efecto adverso sobre la función cardiovascular <sup>(178)</sup>.

---

También se ha comentado su papel en la génesis de las malformaciones.

Otras alteraciones propias del recién nacido HMD, como la hipocalcemia y la hipomagnesemia no están explicadas con exactitud. La hipocalcemia parece derivarse de un hipoparatiroidismo más intenso que el de los propios recién nacidos normales, aunque se ha propuesto que la existencia simultánea de hipomagnesemia podría influir al respecto <sup>(179)</sup>.

## ***2. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS***

## **2.1. PROBLEMATICA ACTUAL EN LOS ASPECTOS HEMATOLOGICOS DEL HMD.**

En el presente trabajo se ha centrado el estudio del HMD en los aspectos hematológicos que presentan estos recién nacidos, y en particular en la poliglobulia. Como ya se ha comentado, el HMD se trata de un grupo neonatal de alta incidencia: hasta el 3.80% de los RN vivos en nuestro hospital proceden de gestaciones diabéticas<sup>(118,134)</sup>. Por otra parte, ya se ha señalado que la poliglobulia es una de las complicaciones más frecuentes del HMD, presente en el 9,8% de nuestro estudio retrospectivo y frente a una incidencia máxima de 2.8% de poliglobulias a nivel del mar y en nuestro medio<sup>(116,117,118)</sup>. Hemos visto que la poliglobulia patológica provoca el síndrome de hiperviscosidad, con una elevada morbilidad<sup>(115)</sup>, y que el tratamiento de esta entidad, la exanguinotransfusión parcial, no deja de ser una técnica cruenta no exenta de complicaciones<sup>(112,125)</sup>.

Se plantea todavía cual es la causa de la mayor incidencia de poliglobulia en el HMD. Parece ser que es una situación temporal, secundaria a algún factor presente en la vida intrauterina, ya que las alteraciones hematológicas desaparecen en las primeras semanas de vida<sup>(5)</sup>. Esta poliglobulia se acompaña de signos de eritropoyesis

activa, con niveles elevados de Epo en sangre de cordón<sup>(79)</sup>. Dado que la hipoxia es el principal estímulo para la síntesis de Epo<sup>(50,64)</sup>, y que se ha demostrado la hipoxia en estos fetos, tanto en modelos de experimentación animal como en el ser humano<sup>(82,181,182)</sup>, es lógico justificar que la poliglobulia se deba a la existencia de hipoxia fetal en la gestación diabética<sup>(79,183)</sup>.

Sin embargo, surge una paradoja: el HMD, que suponemos es hipóxico, posee un peso normal, o incluso elevado para su edad gestacional, a diferencia de otros RN procedentes de gestaciones complicadas con hipoxia fetal, y que también presentan mayor incidencia de poliglobulia con cifras de eritropoyetina aumentadas, pero con un peso normal o bajo para su edad gestacional<sup>(5,66,67)</sup>. La macrosomía del HMD se ha explicado por la hipótesis de Pedersen<sup>(172)</sup>: se trata de un feto hiperglucémico, y es sabido que la insulina es la principal hormona anabolizante fetal<sup>(163)</sup>.

Una hipótesis plausible, para explicar la contradicción de la macrosomía fetal ante la existencia de hipoxia intrauterina, sería que se tratase de una hipoxia relativa producida en el territorio capilar, por excesiva desaturación de la sangre arterial, a causa del acentuado ritmo del metabolismo extracelular de estos fetos<sup>(81,174,184,185)</sup>, este mayor consumo de oxígeno se ha compensado con la



---

poliglobulia<sup>(183)</sup>. En la diabetes grave, a partir de la clasificada como tipo D de White, se encuentra otra situación: el RN suele ser de bajo peso para su edad gestacional, puesto que la hipoxia es ya arterial y secundaria a lesiones de vasculopatía placentaria, sin que se puedan abastecer los requerimientos ante el aumento en la demanda metabólica<sup>(186)</sup>.

Existen otros datos que interesan en la génesis de la poliglobulia del HMD. Ha sido demostrado que la insulina y las somatomedinas o factores de crecimiento insulin-like (IGF-I e IGF-II) son capaces de estimular la eritropoyesis<sup>(187,188,189)</sup>. Resultados parciales, pero similares, se han obtenido en el HMD, aunque por ello no se pueda afirmar que la poliglobulia del HMD se deba exclusivamente a la influencia de la insulina, pero sí parece tener un papel aparente<sup>(190)</sup>.

Otra característica hematológica del HMD es la presencia de un porcentaje de Hb fetal superior al correspondiente para su edad de gestación<sup>(109,110)</sup>. Este fenómeno puede ser atribuido al estímulo de la Epo sobre la eritropoyesis fetal<sup>(82,104)</sup>, aunque en otras situaciones de hiperinsulinismo fetal también se altera dicha proporción<sup>(191)</sup>.

Pero posiblemente no sólo interviene el binomio Eritropoyetina-Insulina en la explicación de las alteraciones hematológicas del

HMD, ya que pueden actuar otras hormonas moduladoras de la eritropoyesis, como son los glucocorticoides, andrógenos, hormonas tiroideas, hormona de crecimiento, somatotropina coriónica humana y factores de crecimiento insulín-like (IGF-I e IGF-II)<sup>(54,187,192,193)</sup>. Algunas de estas hormonas se han encontrado elevadas en el HMD<sup>(194)</sup>.

Hasta el momento, las hipótesis propuestas han sido experimentadas principalmente en modelos animales<sup>(79,81,174,180,184)</sup>. En el RN humano existen algunos estudios, en los que comienzan a comprobarse algunas de las hipótesis, aunque en general con una visión parcial de cada uno de los aspectos<sup>(82,109,181,183,190)</sup>, y hasta el momento no practicado en nuestro país. Por todo lo expuesto, y con la intención de ofrecer una visión global de la poliglobulia del HMD se ha planteado esta tesis, dentro de la línea de investigación sobre el HMD seguida en nuestro Departamento de Pediatría<sup>(2,3,4)</sup>, como fué expuesto en el apartado 1.1.

## **2.2. OBJETIVOS**

De acuerdo con las consideraciones previas acerca de los puntos críticos en la problemática de la poliglobulia del HMD, hemos considerado pertinente para el presente trabajo plantear los siguientes objetivos:

1. Confirmar si existe relación entre la poliglobulia del HMD y las cifras de eritropoyetina de estos recién nacidos.
2. Establecer la posible relación entre los indicadores de poliglobulia del HMD y los propios de la fetopatía diabética, que incluyen los datos de tipo somatométrico (macrosomía) y los marcadores endocrino-metabólicos (hiperinsulinismo fetal).
3. Determinar si los parámetros hematológicos están influidos también por otros factores perinatales, tanto de hipoxia crónica fetal (hábito tabáquico materno, posible disfunción placentaria) como de hipoxia aguda intraparto.
4. Establecer la influencia del control metabólico de la gestante diabética sobre los indicadores de poliglobulia y la eritropoyetina del HMD.

### ***3. MATERIAL Y METODOS***

### **3.1 MUESTRA.**

#### **3.1.1 CRITERIOS DE INCLUSION.**

Han sido incluidos en el estudio RN a término (edad gestacional entre 37 y 41 semanas)<sup>(1, 111)</sup>, con sus respectivas madres, asistidos en el Hospital Clínico y Provincial de Barcelona, clasificados en los siguientes grupos:

1. RN normales.
2. RN hijos de madre diabética.

Para la inclusión en los grupos fueron adoptados los siguientes criterios:

**1. RN normales:** neonatos a término, de peso adecuado y sin patología presente ni probable. Constituyen el **grupo control**, al presentar un estado neonatal normal. Una vez confirmada la EG, se comprueba la adecuación del peso en las tablas somatométricas confeccionadas por el propio Departamento, calculadas a partir de la misma población de la que se seleccionan los casos para estudio<sup>(1, 112)</sup>. Se acepta la ausencia de patología al constatarse como normal la exploración habitual de estos recién nacidos, practicada entre las 12 y 24 horas de vida, y con una evolución

clínica ulterior anodina, sin datos anamnésicos que hagan sospechar el riesgo de padecer una patología determinada.

La edad gestacional (EG) ha sido evaluada con métodos prenatales y postnatales. En el primer grupo se encuentra la EG según fecha de próximo parto, que se basa en la fecha de última regla materna (FUR). Cuando la madre conoce bien este dato y los ciclos previos son regulares, sigue siendo un método exacto. Otros sistemas prenatales se han basado en recoger la altura uterina, o bien el seguimiento de las mediciones somatométricas prenatales, especialmente el diámetro biparietal y/o la longitud del fémur fetal por ecografías sucesivas (para este fin se empleó un ecógrafo tipo HITACHI modelo EUB-340<sup>®</sup>). En todos los casos se ha utilizado un método de valoración de la edad gestacional en el período postnatal. Concretamente, el test de Ballard<sup>(112)</sup> entre las 24 y 48 horas de vida. La fiabilidad de esta técnica es también de  $\pm 2$  semanas, por lo que si la diferencia de apreciación entre la FUR y el test de Ballard no supera las 2 semanas, se considera válida la edad gestacional calculada a partir de la FUR. Si la diferencia supera las 2 semanas se acepta como válida la EG obtenida mediante la puntuación del test de Ballard.

**2. RN hijos de madre diabética:** RN cuyas madres han presentado a lo largo del embarazo un trastorno demostrado del metabolismo glucídico, por lo que existe la certeza de que durante la vida intrauterina el feto ha estado expuesto a los trastornos secundarios a esta intolerancia. Se tratará por tanto de un recién nacido de alto riesgo de desarrollar una variada patología<sup>(171)</sup>.

Para considerar el tipo clínico de diabetes materna ha sido utilizada la clasificación de P. White actualizada<sup>(137)</sup>, resumida en la Tabla 3.1, por su utilidad clínica y obstétrica. El grupo A de White engloba la diabetes gestacional y partir de la clase B de White, todas son diabetes insulinizadas, incluyéndo en el subgrupo B-II a las diabetes gestacionales insulizadas. Diabetes gestacional es la iniciada o diagnosticada durante el embarazo<sup>(169,195)</sup>. Para su diagnóstico se utiliza la metodología empleada por los Servicios de Diabetología y Obstetricia del Hospital Clínico. Consiste en practicar a todas las gestantes una glucemia basal, como mínimo en dos ocasiones, que se repite de nuevo entre las semanas 24 y 28 en caso de que fuera normal, para aumentar la sensibilidad del diagnóstico. Se considera patológica toda glucemia basal superior a 105 mg/dL. Si supera 130 mg/dL es ya diagnóstica de diabetes B. Si oscila entre 105 y 130 mg/dL se practica la sobrecarga oral con glucosa y determinación de curva de glucemia posterior, según los criterios de O'Sullivan y

**TABLA 3.1. CLASIFICACION DE LA DIABETES MELLITUS EN EL EMBARAZO SEGUN P. WHITE (actualizada)**

- A. Diabetes gestacional
- B-I. Inicio de la diabetes después de los 20 años o evolución inferior a 10 años.
- B-II. Diabetes gestacional insulinizada.
- C. Inicio entre los 10 y 19 años o evolución de 10 a 19 años.
- D. Inicio de edad inferior a los 10 años o evolución superior a los 20 años: retinopatía simple, calcificaciones vasculares o hipertensión.
- E. Sin ulteriores estudios.
- F. Existencia de nefropatía.
- G. Fallo orgánico múltiple durante el embarazo.
- H. Cardiopatía, enfermedad coronaria.
- R. Retinopatía proliferativa.
- T. Enferma transplantada renal.



Mahan<sup>(196, 197)</sup>. Dicha prueba se realiza directamente a toda gestante con antecedentes de diabetes mellitus familiar, macrosomía o muerte fetal intraútero, abortos de repetición, hidramnios, multiparidad, obesidad, candidiasis genital, edad superior a 40 años o diabetes gestacional en otro embarazo<sup>(198)</sup>. El diagnóstico de diabetes queda establecido al comprobar dos o más valores de glucemia anormales en una misma curva o un valor alterado, en dos curvas consecutivas, tras repetición a los 15 días de la primera.

Las diabéticas gestacionales ya diagnosticadas son sometidas a un régimen dietético y a unos controles estrictos, conjuntamente por el Obstetra y el Diabetólogo. Son tratadas con insulina las gestantes que presentan una glucemia basal superior a 115 mg/dL, postprandial superior a 135 mg/dL o hemoglobina glucosilada (HbA<sub>1c</sub>) superior a 8.2% en algún momento del control.

Todos los RN son de Barcelona y su provincia, donde las familias tienen su residencia habitual, acudiendo al Hospital Clínico por propia iniciativa, por indicación expresa de algún facultativo, o bien provenientes del propio dispensario de Diabetología. En cada caso se ha practicado una exploración clínica rutinaria completa y diaria. En función de la anamnesis y de los hallazgos exploratorios se han

practicado los exámenes complementarios oportunos según el protocolo específico que se utiliza actualmente en el Departamento.

En todos los casos fue solicitada la autorización de los padres, tras ser suficientemente informados del objetivo y metodología del estudio, y previa a la inclusión de su hijo en el mismo, obteniendo el consentimiento oral ante un testigo.

### 3.1.2 CRITERIOS DE EXCLUSION.

Para evitar al máximo la interferencia de otros factores que puedan dispersar los resultados, se han excluido del estudio :

- 1) Los recién nacidos prematuros (edad de gestación inferior o igual a 36 semanas y 6 días) y los postmaduros (edad gestacional igual o superior a 42 semanas cumplidas), siguiendo los criterios de evaluación de edad gestacional ya comentados, para evitar la variabilidad relacionada con la distinta maduración y permanencia intrauterina.
- 2) Los Recién nacidos que presentaron sufrimiento fetal agudo o anoxia neonatal, para evitar la interferencia secundaria a

hipoxia<sup>(61,74)</sup>. Se consideró que existía estrés fetal intraparto cuando fue constatado alguno de los siguientes datos<sup>(112, 199, 200)</sup>:

- a). Presencia de alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal (FCF) de características patológicas.
- b). Existencia de acidosis en la sangre capilar fetal (obtenida intraparto por punción del cuero cabelludo) o en la arteria umbilical , considerando valores patológicos para la sangre capilar fetal:  $\text{pH} \leq 7.25$  y  $\text{EB} \leq -5$ , y para la sangre de arteria umbilical :  $\text{pH} \leq 7.20$  y  $\text{EB} \leq -8$ .
- c). Comprobación de la vitalidad fetal alterada mediante el test de Apgar, éste es considerado patológico cuando al minuto es igual o inferior a 3 o bien a los 5 minutos es inferior a 7<sup>(112)</sup>.

La eliminación de meconio intraparto se valora positivamente si coexiste con alguna de las tres alteraciones anteriormente citadas.

- 3) Hijos de madres afectas de hipoxia posible o demostrada durante la gestación, por la repercusión fetal de esta situación, especialmente en los parámetros hematológicos: Permanencia en altitudes durante la gestación<sup>(201)</sup>, cardiopatía, neumopatía, hemoglobinopatías y demás anemias<sup>(202)</sup>.

- 
- 4) Recién nacidos afectados de alteraciones que modifican la respuesta eritropoyética. Incluye los RN afectados de tumores y quistes renales o tumores cerebelosos, diagnosticados tras exploración física en el RN, o ecográficamente en la gestante, por la frecuencia de asociación a hiperproducción de Eritropoyetina, la misma situación atañe a los afectados de tirotoxicosis neonatal, hiperplasia suprarrenal congénita, trisomías 13, 18, 21<sup>(1, 5)</sup>. La variabilidad hemodinámica tal que condicionan las cardiopatías congénitas también hacen excluir este grupo de RN<sup>(112)</sup>. La enfermedad por incompatibilidad de grupos sanguíneos es motivo de exclusión tanto por la repercusión en los parámetros hematológicos como por los valores elevados de Eritropoyetina que presentan estos recién nacidos<sup>(66)</sup>.
- 5) Macrosomas patológicos no hijos de madre diabética. RN de peso al nacer superior a 4000 g, pero cuyas madres no han sido catalogadas como diabéticas, ante la duda de un fallo diagnóstico durante la gestación; o bien RN patológicos afectados de síndrome de Beckwith-Wiedeman, hidrops fetal, tumoraciones, síndrome parabiótico (embarazo múltiple con feto parásito) por mencionar algunos de ellos<sup>(1)</sup>.

- 
- 6) Situaciones de transfusión materno fetal o intergemelar así como los casos en los que se practicó la ligadura tardía de cordón, para descartar poliglobulias hipervolémicas<sup>(5)</sup>.

Otras variables no han constituido criterios de exclusión, pero se han registrado para comprobar su posible influencia en el estudio, como el sexo, grupo étnico, circunstancias que rodean al parto, hábito tabaquico materno o existencia de algún grado de hipertensión asociada a la gestación.

### **3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.**

El material de estudio se obtuvo tanto por recogida de datos clínicos de la gestante y su hijo, como por estudio analítico directo.

Los datos clínicos incluyen la recopilación de datos relativos a la filiación, antecedentes, somatometría y control de la gestante y de su hijo, obtenido de las historias clínicas de Obstetricia, Diabetología y Pediatría. En el apartado 9 (Anexos), se muestran las hojas de recogida de datos maternos (9.1), neonatales (9.2) y bienestar fetal (9.3).

Los datos analíticos de la madre y el recién nacido están recogidos en el anexo 9.4.

Todas las variables consideradas en el estudio quedan expresadas en el listado de variables que puede consultarse en el apartado 3.4.

El estudio se inicia en el mismo paritorio durante el período del parto, consignándose en cada caso el tipo de parto y las incidencias del mismo. El control metabólico de la gestante intenta ser óptimo en el caso de la gestante diabética y corre a cargo del equipo de

Diabetología. Sin embargo es posible que algunas de éstas acudan sin control. Se trata también de una variable codificada. El aspecto de la placenta y cordón umbilical queda también reflejado.

1) **Madre** : Extracción de sangre venosa antecubital (15 cc), en un período aproximado de 5-10 minutos antes del expulsivo. Cinco mL se introducen en un tubo de vidrio con ácido epsilon-diaminotetracético tripotásico (EDTA-K<sub>3</sub> ) como anticoagulante, para la determinación de hemoglobina glucosilada (HbA<sub>1</sub>), hemoglobina total (Hb), Hematocrito (Hct), Hematíes (Hem), Volumen corpuscular medio (VCM), reticulocitos. Otros 5 mL se introducen en tubo de plástico con el EDTA-K<sub>3</sub> más 0.1 mL de Trasylol<sup>®</sup> (inhibidor de la actividad tripsínica del plasma), cuyo plasma se empleará para la determinación de glucemia, C-Péptido inmunorreactivo (CPR), Insulina (IRI) y Glucagón (IRG). El resto de la sangre se introduce en tubo estéril de vidrio, sin anticoagulante, para determinación de eritropoyetina. En el caso de que la madre lleve cualquier tipo de perfusión, la extracción se efectúa en la extremidad libre.

2) **Cordón** : Extracción de 4 mL de sangre de arteria umbilical y 2 mL de vena umbilical de forma anaeróbica, para determinar gasometría de forma inmediata después del expulsivo. Se

extraen a continuación 15 mL de vena umbilical por succión suave del vaso, repartiéndose igual que lo descrito en la extracción materna, con la salvedad que también se determina Hemoglobina fetal (HbF), de la sangre en el tubo de vidrio con EDTA-K<sub>3</sub> empleado para el hemograma y otros parámetros hematológicos.

De forma simultánea se inicia el cronometraje desde la ligadura de cordón umbilical y se cuantifica el test de Apgar al mismo tiempo que se realiza la reanimación. Todos los tubos de los apartados anteriores que fueran para determinaciones fuera del área del paritorio, salvo los de eritropoyetina, se guardan inmediatamente en un termo portátil refrigerado de forma permanente a 4°C, para evitar la degradación y detener al máximo el consumo de glucosa por parte de las células sanguíneas. Durante este tiempo se recogen los datos relativos a la placenta y a la somatometría del recién nacido. El almacenaje y transporte de las muestras desde la Sala de Partos hasta el Laboratorio se efectúa en el dicho termo, con los tubos herméticamente cerrados. La centrifugación del plasma se realiza acto seguido a 4° en centrífuga (modelo CHRIST IV-KS°). El plasma es conservado en un refrigerador (LINDE\*\*\*\*°). Los tubos con sangre destinada a determinación de Eritropoyetina, se mantienen a temperatura ambiente durante 7 horas, hasta lograr un coágulo



adecuado, centrifugándose a continuación para facilitar la separación del suero.

3) **Recién nacido:** Extracción de 2 mL de sangre venosa central (femoral) para determinar Hct entre las 6 y 12 horas de vida, dado que se conoce que el valor de Hct en cordón puede ser 10 puntos inferior al venoso central del RN, y que su máximo valor se alcanza a las 12 horas de vida<sup>(114)</sup>. Este parámetro sólo se aplica en los casos en que el Hct de cordón sea superior al 56%, ya que está indicado por razones asistenciales, para diagnóstico precoz de poliglobulia no fisiológica.

La posible **yatrogenia** derivada de este estudio es nula para el RN, dado que las extracciones proceden del cordón umbilical, y que la única manipulación que sufren algunos neonatos es una única punción femoral, en aquellos casos en los que por razones asistenciales estaría indicado practicarla, por los motivos anteriormente señalados .

### **3.3. METODOS.**

#### **3.3.1. DETERMINACIONES SOMATOMETRICAS.**

Las variables somatométricas cuantificadas han sido el peso, la longitud (talla en la madre), el perímetro craneal y los pliegues subcutáneos (subescapular y tricípital)

El peso neonatal ha sido medido en báscula clínica especial para recién nacidos y lactantes (modelo Atlántida<sup>(R)</sup>, Añó-Sayol), previo equilibrado. La precisión es de  $\pm 0.01$  Kg, suficiente para el presente estudio. El peso es anotado en la misma Sala de Partos tras la reanimación inmediata, pinzado el cordón umbilical y con el recién nacido desnudo. Para facilitar el cálculo de variables derivadas, como es la desviación porcentual del peso respecto al percentil 50 (DESP50RN), el peso se expresa en Kilogramos. También se pesa la placenta en la propia Sala de Partos con la misma báscula, una vez seccionado el cordón umbilical sobrante (suele incluir unos 10-15 cm del cordón). La madre se pesa en las básculas clínicas para adultos que llevan incorporado un tallímetro. La precisión es la misma. Este es el peso en el momento previo a parto. De la misma forma se han medido los pesos anteriores a lo largo de la gestación en las sucesivas visitas ambulatorias que la

embarazada ha seguido. El peso habitual se conoce por la anamnesis y queda reflejado en la historia clínica

La longitud del recién nacido es tomada mediante un tallímetro neonatal de precisión media ( $\pm 0.5$  cm) para medición en decúbito supino. Este dato se mide siempre en las primeras 48 horas de vida y se consigna en centímetros por las mismas razones expuestas con relación al peso. En la madre la talla se mide en tallímetros asociados a las básculas que permitan una precisión de  $\pm 0.1$  cm.

El perímetro craneal del recién nacido se valora a las 72 horas de vida midiéndolo con cinta métrica inextensible, que sigue la máxima circunferencia fronto-parieto-occipital. La precisión es de  $\pm 0.1$  cm y el retraso en la medición se debe a que en las primeras horas puede existir un acabalgamiento de parietales consecutivo al paso por el canal del parto que condicione unos valores por debajo de lo real, o bien la existencia de caput succedaneum que motive la situación inversa. Se consigna si existe cefalohematoma, lo que trastornaría de la misma manera los resultados.

Los pliegues subcutáneos han sido medidos tanto en la madre como en el recién nacido. Esto ha sido posible gracias a la utilización del lipómetro de presión continua modelo Holtain<sup>(R)</sup>. Han sido escogidos

los pliegues tricpital y subescapular izquierdos como los más representativos. Tras pinzar 1 cm aproximadamente de tejido subcutáneo se coloca el lipómetro, efectuando la lectura a los 10 segundos de su aplicación el mismo. En el recién nacido la medición es efectuada en la primera hora de vida para evitar las variaciones consecutivas a la pérdida fisiológica de peso. La precisión es de  $\pm 0.2$  mm. En la madre este dato es obtenido durante los dos días postparto.

A la hora de utilizar las tablas somatométricas para comprobar la adecuación del peso y la desviación del mismo respecto al percentil cincuenta para la misma edad gestacional, se ha preferido utilizar las propias tablas confeccionadas en el Servicio, ya que reflejan posiblemente mejor nuestra población<sup>(1, 112)</sup>. Se considera como RN de peso adecuado cuando su peso está comprendido entre los percentiles 10 y 90 de las curvas elaboradas en el Servicio, mientras que los RN de bajo peso son los que se encuentran por debajo del percentil 10 para el peso, y RN de peso elevado los que se localizan por encima del percentil 90 para su edad gestacional.

Las variables somatométricas transformadas han sido: la desviación del peso neonatal respecto al peso del percentil 50 para su edad gestacional (DESP50RN) que se calcula de la siguiente forma,

siendo PESRN el peso del neonato y PESP50RN el peso teórico correspondiente al percentil 50 para su edad de gestación:

$$DESP50RN = (PESRN - PESP50RN / PESP50RN) * 100$$

También se calculó la Ratio placentaria o relación entre el peso placentario y el peso neonatal:

$$\text{Ratio placentaria} = \text{peso placenta} / \text{peso neonatal}$$

Los datos de laboratorio han sido obtenidos según se expresa a continuación.

### **3.3.2. GASOMETRÍA DE VASOS UMBILICALES Y CAPILAR FETAL.**

Es practicada también con fines asistenciales en todo RN atendido en el Hospital Clínico de Barcelona, para ello debe ser tomada muestra de ambos vasos umbilicales, de forma anaeróbica, para determinar a temperatura prefijada de 37°C los valores de pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> directamente, mediante electrodos polarográficos, y el Exceso de Base (EB) de forma secundaria, por extrapolación de acuerdo con el normograma de Siggaard-Andersen<sup>(204)</sup>. Todo ello es obtenido con el autoanalizador de gases MicropH/Blood Gas Analyzer modelo 413 (Instrumentation Laboratories®), situado en la misma Sala de Partos. La determinación es inmediata al finalizar

el período expulsivo fetal. La gasometría en sangre capilar fetal es obtenida intraparto por punción de cuero cabelludo en aquellos casos en los que la monitorización de la frecuencia cardíaca fetal indica la posible existencia de asfixia, y se ha utilizado como criterio excluyente. La determinación de valores se realiza de igual forma que en vasos umbilicales. Son suficientes 90  $\mu$ L de sangre, que son aspirados por la máquina. El rango de detección se encuentra en 6.4 - 8 para el pH, 8-200 para la  $p\text{CO}_2$ , 0-800 para la  $p\text{O}_2$ . Los resultados se expresan en mmHg para el  $\text{PCO}_2$  y  $\text{PO}_2$ , y para el EB en mmol/L.

### **3.3.3. VARIABLES DEL HEMOGRAMA: HEMOGLOBINA, HEMATOCRITO, VCM, HEMATÍES.**

Los resultados se expresan en g/L para la Hemoglobina, para el Hematocrito sin unidades (cociente L/L), aunque en algún cálculo se expresan en porcentaje (%) para facilitar el manejo numérico, el VCM se expresa en femtolitros (fL), y los hematíes en su número por  $10^{12}/\text{L}$ , según la expresión recomendada para parámetros hematológicos básicos en el sistema SI<sup>(205)</sup>. Se determinaron en el contador electrónico Coulter-Counter S-5<sup>®</sup> (Coultronics Electronics), existente en el laboratorio de Urgencias, que puede realizar los contajes por micrométodo. Posee un coeficiente de variación de

1.5% tanto para glóbulos rojos como blancos, y ofrece una dispersión en las cifras de hemoglobina inferior a 0.4 g m/d.

El contador automático está basado en el principio Coulter, o método de la resistencia eléctrica, que significa que las células son malas conductoras de la electricidad, al contrario de lo que sucede con los líquidos dilutores, tales como la solución salina fisiológica. Después de efectuado el contaje de leucocitos en otro circuito, la suspensión celular se transfiere a la cubeta de hemoglobina, donde se lisa la solución y la hemoglobina se convierte en cianmetahemoglobina, cuya absorbancia es determinada mediante fotocolorimetría y comparación con el patrón de referencia. Mediante el tratamiento matemático del resultado de la hemoglobina, del número de hematíes y del volumen corpuscular medio, de manera indirecta el aparato obtiene el hematocrito, así como otros parámetros que en este estudio no se han valorado, como la hemoglobina corpuscular media y la concentración corpuscular media de hemoglobina. La fórmula para determinar el hematocrito es la siguiente :

$$\text{Hto (L/L)} = \text{Hematíes} \times 10^{12}/\text{L} \times \text{VCM en fL}$$

Cuando fue utilizada una micromuestra se realizó la predilución de 44.7  $\mu\text{l}$  de sangre y 10 cc de el líquido dilutor Isoton II<sup>R</sup>, con una

proporción de 1/224. El ciclo es idéntico al de la sangre total, pero sin dilución del circuito de aspiración<sup>(206,207)</sup>.

#### **3.3.4. HEMATOCRITO CAPILAR.**

Es determinado en sangre de cordón de forma sistemática en el Hospital Clínico de Barcelona, desde el año 1988, para despistaje de poliglobulia. Se practica Hcto central venoso (femoral) a las 6 horas de vida si el umbilical es superior a 56%, por las razones expuestas en otro apartado. Es obtenido mediante centrifugación de sangre total (50  $\mu$ L), procedente de arteria umbilical o vena femoral, según el caso, llenando hasta 3/4 partes de dos tubos capilares de vidrio desechable, no graduado, de 1mm de diámetro interno, 7.5 cm de longitud, comercializado ya con heparina (2 UI por tubo). Una vez sellado un extremo con plastelina, es centrifugado a continuación durante 10 minutos, en centrífuga de microhematocrito a 10.000 g. El resultado es proporcionado por un lector graduado a tal efecto, que ofrece el valor hematocrito tras ajustar el extremo inferior de la columna de sangre en la línea correspondiente a 0 y el extremo superior en la línea correspondiente al 100. El valor aparece en la línea que pasa por el límite del inicio del paquete de hematíes<sup>(208)</sup>.



### 3.3.5. RETICULOCITOS.

Como es sabido, son hematíes jóvenes, recién liberados de la médula ósea, que todavía conservan algunas organelas citoplasmáticas. Pueden contabilizarse al ponerse en relieve los restos de ARN ribosomal, ya que precipitan en presencia de ciertos colorantes "vitales", tales como el azul de cresilo, dando lugar a imágenes filamentosas fácilmente visibles al microscopio óptico. Se determinaron en sangre materna y de cordón, en el mismo día de la extracción, y antes de pasadas 6 horas de ésta, ya que los reticulocitos pueden madurar "in vitro". Una muestra de 150  $\mu$ l de sangre total conservada con EDTA-K<sub>3</sub> es incubada con igual volumen de azul brillante de cresilo, a 37° C, en baño maría durante 15 minutos. De esta suspensión se efectúan dos extensiones para cada paciente, con secado al aire. El recuento de reticulocitos es realizado por lectura en microscopio óptico, con objetivo de inmersión y disco de Miller. Se cuentan un mínimo de 2000 hematíes por extensión, con objetivo de x 50. aumentos, anotando el número de reticulocitos observados. Entre las dos muestras no debe haber una diferencia superior al 1%. El cálculo del resultado utiliza la siguiente fórmula<sup>(206)</sup>:

$$\text{Reticulocitos (\%)} = \frac{\text{N}^{\circ} \text{ de reticulocitos contados}}{\text{N}^{\circ} \text{ de Hematíes observados}} \times 100$$

### 3.3.6. HEMOGLOBINA FETAL

Es evaluada por la técnica de Singer<sup>(208)</sup>. Está basada en la mayor resistencia de la HbF respecto a la HbA a la desnaturalización por el álcali. Se expresa en porcentaje respecto al total de Hemoglobina.

#### Reactivos:

a) Solución de NaOH 1/12N (pH = 12)

NaOH.....	3.333 g
H <sub>2</sub> O destilada.....	hasta 1000 ml

b) Solución de sulfato amónico al 50% en solución saturada acidificada

(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	156.50 g
HCl 0.1N.....	1.25 ml
H <sub>2</sub> O destilada.....	hasta 500 ml

El método<sup>(209)</sup> consiste en síntesis:

Obtención de hematíes lavados : A partir de 0.1 mL de sangre total recogida con heparina o EDTA, añadir 2 ml de solución salina fisiológica (NaCl 9 g /<sub>oo</sub>). Agitar y centrifugar a 3.000 rpm durante 5 minutos. Repetir el lavado dos veces más.

Obtención de hemolizado: A 100  $\mu$ L de hematíes lavados se añaden 200  $\mu$ L de agua destilada. Se agita fuertemente hasta la hemólisis total.

1. Pipetear 1.6 ml de NaOH 1/12N y dejar en un tubo a temperatura ambiente durante 10 minutos . Añadir a continuación 0.1 ml de hemolizado, agitándolo durante 60 segundos.
2. A los 60 segundos se añaden 3.4 ml de la solución acidificada de sulfato amónico al 50% y agitar, con lo cual precipita la hemoglobina desnaturalizada(en este caso la HbA).
3. Se filtra la solución.
4. Se lee con el espectrofotómetro Beckman DB-GT<sup>R</sup>, ajustado a una longitud de onda de 540 nm, frente a un blanco de agua destilada. Se lee así mismo una muestra de 0.02 ml de hemolizado sin procesar mezclado con 5 ml de agua destilada para conocer la absorbancia de la hemoglobina total.
5. Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{Absorbancia del problema}}{\text{Absorbancia del hemolizado} \times 5} \times 100 = \% \text{ HbF}$$

### **3.3.7. HEMOGLOBINA GLUCOSILADA MATERNA (HBA<sub>1</sub>).**

Ha sido determinada mediante cromatografía de intercambio iónico en microcolumna. Aquí se ha empleado el Kit comercial Glyco Hb Quick Column<sup>®</sup> (Helena Laboratories), que posee un coeficiente de variación intraensayo de 2.5%.

Se utilizan los siguientes materiales:

a) Microcolumna que contiene:

Resina de intercambio catiónico

Cianuro potásico..... 0.065%

Azida sódica..... 0.01%

Tampón fosfato 0.04M

b) Eluyente : Glyco Hb Developer<sup>(R)</sup>, que contiene el mismo tampón y conservantes que la resina de intercambio.

c) Solución hemolizante: Glyco Hb Hemolysate Reagent<sup>(R)</sup>

Solución de saponina..... 0.01%

Cianuro potásico..... 0.01%

Azida sódica..... 0.01%

El método<sup>(205,210)</sup> comienza por la mezcla de 50  $\mu\text{L}$  de la sangre problema con 200  $\mu\text{L}$  de la solución hemolizante. Se agita, esperando unos 10 minutos hasta completar la hemólisis. Resuspender la columna de resina esperando unos 10 minutos hasta que se vuelva a sedimentar. Se depositan 50 $\mu\text{L}$  del hemolizado en la parte superior de la columna, tras lo cual va descendiendo a lo largo de la resina impregnándola en 10 segundos. Se coloca un tubo colector debajo de la microcolumna y se añaden 4 ml de solución eluyente en la parte superior. El eluyente tarda unos 30 segundos en atravesar la resina. El eluido (que contiene la fracción de HbA<sub>1</sub>),

junto con una muestra del hemolizado (que contiene la fracción total de hemoglobina), y otra muestra de agua destilada (blanco) se ofrecen al lector del espectrofotómetro (Heme-Spec<sup>®</sup>), que mide el valor de HbA<sub>1</sub> automáticamente, con ajuste a la temperatura de lectura. Los valores se expresan finalmente en porcentaje sobre la cantidad de hemoglobina:

$$\frac{\text{Absorbancia del eluido}}{\text{Absorbancia del hemolizado} \times 5} \times 100 = \text{HbA}_1$$

### **3.3.8. GLUCEMIA.**

Es determinada en el mismo día de la extracción, en plasma proveniente de la centrifugación refrigerada (4°C ) de la muestra, decantado por pipeteo automático y mantenido a 4°C hasta el análisis. Se obtiene por reacción enzimática con la glucosa-oxidasa, midiendo el consumo de oxígeno por método polarigráfico (autoanalizador Astra-4-Beckman<sup>®</sup>). El rango de lectura es de 0 a 450 mg/dL y la precisión de  $\pm 2$  mg/dl<sup>(211)</sup>.

### **3.3.9. INSULINA.**

La insulinemia se determina por radioinmunoensayo siguiendo el método de Morgan y Lazarow<sup>(212,213)</sup>. El plasma ha permanecido congelado a -20° C hasta su proceso, como también se ha realizado con el C-péptido y el glucagón, para realizar la experiencia de forma intermitente. Esto permite el acúmulo de muestras, con lo que se abarata el coste y se disminuye la variabilidad interensayo.

Se utiliza el Kit comercial INSIK-1<sup>ra</sup> de Cea-Sorin, compuesto de los siguientes reactivos:

- a) Insulina "fria" humana, a concentración de 200  $\mu$ U/mL estabilizada con tampón fosfato al que se le añaden 9 gr de NaCl por 1000 mL.
- b) Insulina-I<sup>125</sup> porcina, estabilizada con tampón fosfato.
- c) Primer anticuerpo anti-insulina porcina obtenido en cobaya, disuelto en tampón fosfato en un título final de 1/150.000.
- d) Segundo anticuerpo anti-inmunoglobulina de cobaya, obtenido de conejo, estabilizado en tampón fosfato con un título final de 1/4000.
- e) Tampón fosfato, 0,04 M ajustado a pH = 7.40 con NaOH5N:

NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> x H <sub>2</sub> O .....	5,52 gr
Albúmina bovina .....	5.00 gr
Mertiholate .....	0,25 gr

---

Agua destilada y desionizada hasta ... 1000 mL

Se sigue el siguiente método<sup>(214)</sup>:

1. Preparación de la curva estándar a partir de la solución madre 200  $\mu$ L.
2. Ensayo: incubación durante 24 horas a 4° C de 100  $\mu$ L de solución estándar o problema con 100  $\mu$ L de una mezcla a partes iguales de los dos anticuerpos. Tras esta incubación se añaden 100  $\mu$ L de la solución de insulina- I<sup>125</sup> y se incuba 24 horas más a 4° C.
3. Centrifugado 45 minutos a 4° C y 1300 g.
4. Se descarta el sobrenadante y se lee el precipitado en un contador de centelleo. Los resultados se expresan en  $\mu$ U/mL.

El método posee una sensibilidad de 5  $\mu$ U/mL, con unos coeficientes de variación intraensayo del 6.3% y de variación interensayo del 14.9%.

### **3.3.10. C-PÉPTIDO.**

El plasma utilizado se conserva de la misma forma que la descrita en el apartado anterior y proviene de las mismas extracciones. Se utiliza el Kit comercial C-péptido II<sup>®</sup> de Daiichi-Radioisotope Labs,

basado en el método descrito por Kaneko y cols<sup>(215)</sup>, que se compone de los siguientes reactivos:

- a) C-Péptido "frio" de naturaleza sintética presentado para preparar la concentración estándar con la adición de un tampón fosfato.
- b) C-Péptido-I<sup>125</sup> de naturaleza sintética y tirosilado con una actividad específica de 100  $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ . estabilizado con tampón fosfato.
- c) Primer anticuerpo anti-C-péptido obtenido en conejo, con un título final de 1/10.00 y estabilizado con tampón fosfato.
- d) Segundo anticuerpo antigammaglobulina de conejo obtenido de la cabra y con título final de 1/100.
- e) Tampón fosfato 0,01M, ajustado a un pH de 7.40 con NaO<sub>4</sub>5N

Para realizarlo, se aplica la siguiente técnica<sup>(216)</sup>:

- 1) Preparación de la curva estandar.
- 2) Ensayo, incubando durante 24 h. 100  $\mu\text{L}$  de la solución estándar o problema con 100  $\mu\text{L}$  del primer anticuerpo y con 100  $\mu\text{L}$  del C-péptido I<sup>125</sup>. Se añaden a continuación 100  $\mu\text{L}$  del segundo anticuerpo dejándolo incubar 24 horas más.
- 3) Centrifugado a 4° C durante 45 minutos a 1300 g.
- 4) Se descuenta el sobrenadante y se cuenta el precipitado en un contador de centelleo. Los resultados se expresan en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .



El método tiene una sensibilidad de  $0.1 \mu\text{g/mL}$ , con un coeficiente de variación intraensayo del 5.5% y un coeficiente de variación interensayo del 7.94%.

### **3.3.11. GLUCAGÓN.**

Se realiza su determinación también mediante radioinmunoensayo, empleando un anticuerpo de gran especificidad para el glucagón pancreático<sup>(217)</sup>. Se emplean los siguientes materiales:

- a) Glucagón porcino estándar (1.5 mg) del WHO International Laboratory for Biological Standards ref 69/194.
- b) Anticuerpos anti-glucagón 30 K del Dr. Unger (Texas University) obtenidos en el conejo con un título final de 1/30.000.
- c) Glucagón  $I^{125}$  de New England Nuclear con una actividad específica variable entre 80-120  $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ .
- d) Tampón glicina ajustado a un pH de 8.80.

#### **Método<sup>(218)</sup>:**

- 1) Soluciones de glucagón a concentraciones estándar decrecientes.
- 2) Incubación durante 4 días a  $4^\circ \text{C}$  de la mezcla de Aponitrina ( $100 \mu\text{L}$ ), solución estándar o solución problema ( $200 \mu\text{L}$ ), anticuerpo 30 K ( $400 \mu\text{L}$ ), glucagón  $I^{125}$  ( $500 \mu\text{L}$ ).

- 3) Se añade en frío tras esta incubación suero de cordero (100  $\mu$ L), solución de charcoal/dextrano (500  $\mu$ L) que se mantiene 45 minutos.
- 4) Centrifugación a 4° C durante 20 minutos a 1800 g.
- 5) Decantar y leer el sobrenadante. Los resultados se expresan en pg/mL.

El método posee una sensibilidad de 25 pg/mL, con unos coeficientes de variación intraensayo del 8.05% y de variación interensayo del 11.16%.

### 3.3.12. CÁLCULO DE LAS RATIOS MOLARES.

Se debe recurrir a una homogeneización de las variables para poder establecer comparaciones mediante las ratios molares, es decir, la expresión fraccionaria entre dos productos que se encuentran normalizados a la misma concentración molar. El cálculo se puede realizar mediante factores de conversión a concentraciones nanomolares (nmol/litro = pmol/mL), o bien mediante cálculo directo agrupando todas las transformaciones en una sola constante que actúa de factor multiplicador de cada expresión. Los cálculos se realizaron de la siguiente forma<sup>(2)</sup>:

1. Ratio molar insulina/glucosa :

Insulina ( $\mu\text{U/mL}$ )  
\_\_\_\_\_ x  $12.42 \times 10^{-8}$

Glucosa (mg/dL)

2. Ratio molar C-peptido/glucosa:

C-Péptido (ng/mL)  
\_\_\_\_\_ x  $595.8 \times 10^{-8}$

Glucosa (mg/dL)

3. Ratio molar Glucagón/glucosa:

Glucagón (pg/mL)  
\_\_\_\_\_ x  $0.52 \times 10^{-8}$

Glucosa (mg/dL)

4. Ratio molar insulina/glucagón:

Insulina ( $\mu\text{U/mL}$ )  
\_\_\_\_\_ x 24.04

Glucagón (pg/dL)

5. Ratio molar C-peptido/glucagón:

C-peptido (ng/mL)  
\_\_\_\_\_ x 1153.31

Glucagón (pg/mL)

---

Las tres primeras ratios molares tienen el sentido de normalizar los valores hormonales en función de la glucemia existente. Esto es necesario ante la imposibilidad de partir en todos los casos de la misma glucemia y por otra parte ya da una idea del grado de funcionamiento de las células endocrinas pancreáticas.

Las ratios de C-péptido con el glucagón sirven para dar una idea del estado metabólico predominante en cada caso bien hacia el anabolismo (cuando predomine la secreción insulínica) o bien hacia el catabolismo (cuando predomine la secreción de glucagón).

De todas formas conviene una cierta cautela al interpretar las ratios, pues aunque su sentido biológico es importante, se debe tener en cuenta que aumenta el error original de la medida, y por otra parte debe analizarse si el origen de la variación reside en el numerador o en el denominador<sup>(219)</sup>.

### **3.3.13. DETERMINACION DE ERITROPOYETINA POR RIA.**

Se ha determinado en suero procedente de muestras maternas y de sangre de cordón, mediante radioinmunoensayo (RIA), con el Kit comercial EPO-TRAC (Incstar Corporation<sup>™</sup>).

Las muestras de EPO recombinante que provee el Kit han sido calibradas frente al 2º patrón internacional de eritropoyetina de la OMS ( WHO 2<sup>nd</sup> IRP Erythropoietin Human Urinary/Bioassay 67/343). Una vez formado el coágulo de la sangre en el tubo de cristal, se aspira por pipeteo el suero libre. Estas muestras de suero se mantienen a 4° C hasta 7 días. Si la determinación no se realiza en dicho plazo, se congela la muestra a -20°C, en espera de efectuar el análisis. La valoración del método arroja una recuperación del método entre 87.5 y 108%, con un coeficiente de variación dentro del mismo ensayo de 4.28 a 4.48%, y un coeficiente de variación entre diferentes ensayos de de 10.3 a 11.8%<sup>(38)</sup> .

**Materiales:**

- \* Estandar O (suero salino tamponado).
- \* Estandares con concentraciones conocidas de EPO recombinante de 5 a 260 mu/mL.
- \* EPO recombinante marcada con iodo-125.
- \* Anticuerpo anti-EPO humana (procedente de conejo).
- \* Complejo precipitante (suero de conejo precipitado previamente con suero y surfactante anticonejo de origen caprino).
- \* Controles de EPO recombinante.

**Método<sup>(42)</sup>**

Se trata de un RIA que utiliza EPO recombinante para el trazador y los estándares. Las muestras problema y los estándares se incuban con el anticuerpo primario anti EPO-Trac durante dos horas a temperatura ambiente, a continuación se añade el trazador EPO-Trac marcado con Iodo-125. Después de la incubación a 4 °C durante 16 a 24 horas, se añade a los tubos de ensayo el complejo precipitante anticuerpo anti- IgG. Esta última reacción requiere 30 minutos de incubación a temperatura ambiente , al finalizar los cuales los tubos se centrifugan a 760 g para separar el trazador unido del libre. El trazador libre se elimina por decantación, y el ligado restante es el contado. El tubo de cuentas totales no sigue este proceso de centrifugación y decantación. El precipitado de cada tubo y el tubo de cuentas totales se ha valorado en una gammacámara (Beckman®). Las concentraciones de Epo de las muestras se han extrapolado de las respectivas cuentas por minuto, una vez sustraídas las cuentas de la unión inespecífica, de las cuentas de la curva de calibración. El recuento de radioactividad es inversamente proporcional a la cantidad de EPO presente en la muestra. Los resultados se expresan en mu/mL.

### 3.4. LISTADO DE VARIABLES.

A continuación se detallan las distintas variables empleadas en el estudio, divididas en dos grupos. El primer grupo corresponde a variables básicas o "crudas", recogidas directamente del caso estudiado. El segundo grupo engloba aquellas variables que se han obtenido por cálculos y transformaciones de las anteriores, denominadas variables transformadas. El orden expresado es el que se ha seguido para su manejo ulterior por el ordenador.

El primer grupo, de variables básicas, sigue un cierto orden, que es el siguiente: Las variables numeradas del 1 al 3 son variables clasificatorias, del nº 4 al 32 se refieren a los antecedentes del embarazo y al control de la gestante, las variables del número 33 al 40 son parámetros referentes al parto, las variables 41 al 58 se refieren a los datos clínicos del recién nacido, y las variables 59 a 88 se trata de las variables obtenidas por procedimientos analíticos en el momento del parto.

#### A) VARIABLES BASICAS

1. Número de orden de introducción de la variable en el archivo de datos = ORDINAL.

- 
2. Número de paciente. Se trata del código que clasifica cada caso. Se define con seis dígitos, los dos primeros para expresar el grupo de RN y los 4 siguientes para el número de cada caso dentro del grupo = CODIGO.
  3. Tipo de gestante = TIPOGES.
    1. Normal.
    2. Diabética A de white.
    3. Diabética A insulinizada.
    4. Diabética tipos B,C,D etc de White.
  4. Patología materna asociada. Se incluye como tal toda aquella que no se encuentra relacionada con la diabetes = PATOMAT.
    1. Presente.
    2. Ausente.
  5. Descripción de la patología materna asociada = PATOMATA.
  6. Hábito tabáquico materno = TABACO.
    1. si.
    2. no.
  7. Número de cigarrillos al día en la gestación = CIGADIA.
  8. Existencia de algún grado de hipertensión existente en el embarazo o toxemia = TOX.
    1. si.
    2. no.



- 
9. Hijos macrosomas en gestaciones previas = MACPRECL.
    1. si.
    2. no.
  10. Abortos en gestaciones previas = ABOPRECL.
    1. si
    2. no
  11. Control obstétrico durante la gestación = CONOBSCL.
    1. Sólo a partir de la semana 27 (3ºtmt).
    2. Desde la semana 14 (2ºtmt).
    3. Anterior a la semana 14 (1ªTMT).
    4. Ausencia de control o irregular-esporádico.
  12. Control diabético = CONDIACL.
    1. Iniciado entre la semana 27 y 34 (3ºTMT).
    2. Desde la semana 14 (2ºTMT).
    3. Antes de semana 14 y después de última FUR.
    4. Preconcepcional (mínimo 3 meses previos a última FUR).
    5. Ausencia de control o irregular.
    6. No procede.
  13. Número ordinal de la gestación actual = NUMGEST.
  14. Gestación múltiple = GEMELAR.
    1. si.
    2. no.
  15. Edad materna en años en el momento del parto = EDADMAT.

- 
16. La vitalidad fetal se consideró en aquellos casos en los que se había indicado la práctica de pruebas no invasivas de bienestar fetal como el "non stress test" (NST) o la estimulación con occitocina (POSE) = VITFET. Se considera:
    1. Buena (NST reactivo).
    2. Buena, pero con presencia de NST no reactivos.
    3. Mala, con NST no reactivos y POSE positivos.
  17. Crecimiento fetal valorado por la medición ecográfica del diámetro biparietal o femoral, un mínimo de dos ocasiones = CRECFETO.
    1. Normal.
    2. Retrasado: cuando la medición se sitúa por debajo de la -3 desviaciones estándar.
    3. Adelantado: cuando la medición se sitúa por encima de la -3 desviaciones estándar.
  18. Talla materna en centímetros = TALLAMAT.
  19. Peso habitual materno en kilogramos previo al embarazo = PESMAT.
  20. Peso materno en el momento del parto expresado en Kg = PESMATP.
  21. Pliegue subcutáneo subescapular materno en mm = PSSEMAT.

- 
22. Pliegue subcutáneo tricípital materno en mm = PSTRMAT.
23. Hemoglobina glucosilada en el primer trimestre de gestación = HBGL1CL. Considerada como:
1. Normal: Igual o inferior al 8.2%.
  2. Moderadamente elevada: de 8.3 a 9.5%.
  3. Muy elevada: superior a 9.5%.
- El límite establecido en 8.2% corresponde a la media más tres desviaciones estándar de los valores de referencia del Laboratorio de Hematología.
24. Hemoglobina glucosilada materna en el primer trimestre (en porcentaje) = HBGL1CN.
25. Igual definición que la anterior, pero respecto a la hemoglobina glucosilada del segundo trimestre de gestación = HBGL2CL.
1. Normal: Igual o inferior al 8.2%.
  2. Moderadamente elevada: de 8.3 a 9.5%.
  3. Muy elevada: superior a 9.5%.
26. Hemoglobina glucosilada materna en el segundo trimestre (%) = HBGL2CN.
27. Hemoglobina glucosilada 3<sup>er</sup> trimestre. Igual definición a las anteriores, pero en el 3<sup>o</sup> tmt de gestación = HBGL3CL.
1. Normal: Igual o inferior al 8.2%
  2. Moderadamente elevada: de 8.3 a 9.5%

- 
3. Muy elevada: superior a 9.5%
28. Hemoglobina glucosilada materna en el tercer trimestre (%) = HBGL3CN.
  29. Hemoglobina glucosilada durante la última semana previa al parto, se considera igual que las anteriores = HBGLSCL.
    1. Normal:Igual o inferior al 8.2%
    2. Moderadamente elevada: de 8.3 a 9.5%
    3. Muy elevada: superior a 9.5%
  30. Hemoglobina glucosilada materna en la última semana del embarazo (%) = HBGLUSCN.
  31. Hemoglobina glucosilada materna determinada en el momento del parto y considerada igual que en los apartados anteriores = HBGLMPGL.
    1. Normal:Igual o inferior al 8.2%
    2. Moderadamente elevada: de 8.3 a 9.5%
    3. Muy elevada: superior a 9.5%
  32. Hemoglobina glucosilada materna en el parto (%) = HBGLMATP.
  33. Anestesia materna = ANEST.
    1. Ninguna analgesia
    2. Fármacos analgésicos
    3. Analgesia tópica(pudendos)
    4. Raquianalgesia

- 
5. Anestesia general
  6. 2 + 4.
  7. 2 + 4 + 5.
34. Administración O<sub>2</sub> materno = O2MAT.
1. Si.
  2. No.
35. Aspecto macroscópico placentario = ASPLA.
1. Normal.
  2. Patológico(presencia de infartos, hemorragia o hidrops).
  3. Placenta previa o hematoma retroplacentario.
36. Peso de la placenta en Kg = PESPLA.
37. Aspecto del cordón umbilical = ASPFUNI.
1. Normal.
  2. Circulares de cordón.
  3. Malformaciones vasculares.
  4. Alteraciones longitud.
  5. Nudos.
38. Tipo de parto = TIPOPAR.
1. Eutócico.
  2. Distócico.
  3. Cesárea electiva programada.
  4. Cesárea en curso de parto.
  5. Cesárea urgente.

- 
39. Inicio del parto = INIPAR.
    1. Espontáneo.
    2. Inducido.
    3. Espontáneo con inducción añadida.
    4. Cesárea programada.
  40. Tiempo de amniorrexis = AMNIORR.
    1. Intraparto.
    2. Inferior a 24 horas
    3. Superior a 24 hoas
    4. Más de 4 días.
  41. Puntuación del test de Apgar al minuto de vida = APGAR1.
  42. Puntuación del test de Apgar a los 5 minutos de vida = APGAR5.
  43. Reanimación neonatal = REANIMA.
    1. No o superficial (aspiración de secreciones, estímulo cutáneo).
    2. Moderada (Ventilación con mascarilla).
    3. Profunda (Intubación o reanimación metabólica).
  44. Tipo de recién nacido = TIPORN. Clasificado en :
    1. RN normal.
    2. RN HMD gestacional.
    3. RN HMD insulio-dependiente.

- 
45. Procedencia racial del paciente = ETNIA.
    1. Caucásica
    2. Gitana.
    3. Arabe.
    4. Otras.
  46. Edad gestacional del recién nacido en semanas = EGRN.
  47. Sexo del recién nacido = SEXRN.
    1. Varón.
    2. Hembra.
  48. Peso neonatal en Kg = PESRN.
  49. Peso neonatal correspondiente al percentil 50 para la edad gestacional = PESP5ORN.
  50. Adecuación del peso de RN según la edad gestacional = PESADEC .
    1. Peso adecuado EG.
    2. Bajo peso para edad gestacional.
    3. Peso elevado para la edad gestacional.
  51. Longitud del RN en cm = LONGRN.
  52. Perímetro craneal neonatal en cm = PCRN.
  53. Pliegue subescapular neonatal en mm = PSSERN.
  54. Pliegue tricípital neonatal en mm = PSTRRN.

- 
55. Patología asociada neonatal (ictericia patológica, poliglobulia no fisiológica, trauma obstétrico, distress respiratorio..) = PATORN.
1. Presente.
  2. Ausente.
56. Ictericia no fisiológica en el neonato = ICTERIC.
1. si.
  2. no.
57. Poliglobulia no fisiológica en el neonato (Hto central superior al 65%) = POLIGLO.
1. si.
  2. no.
58. Infección neonatal = SEPSIS.
1. Si.
  2. No.
59. Glucemia materna en el momento parto (mg/dL) = GLUMATP.
60. C-péptido materno en el momento del parto ( $\mu\text{g/mL}$ ) = CPMATP.
61. Insulinemia materna en el momento del parto ( $\mu\text{U/mL}$ ) = IRIMATP.
62. Glucagón materno en el momento del parto (pg/mL) = IRGMATP.



- 
63. Glucemia en sangre cordón (mg/dL) = GLUCORD.
  64. Insulinemia en sangre de cordón umbilical ( $\mu$ U/mL) = IRICORD.
  65. C-Péptido en sangre de cordón ( $\mu$ g/mL) = CPCORD.
  66. Glucagón en cordón umbilical (pg/mL) = IRGCORD.
  67. Eritropoyetina materna (mu/mL) = EPOMAT.
  68. Eritropoyetina en sangre de cordón (mu/mL) = EPOCOR.
  69. Hemoglobina materna (g/L) = HBMAT.
  70. Hemoglobina en sangre de cordón (g/L) = HBCOR.
  71. Hematocrito materno (L/L) = HTOMAT.
  72. Hematocrito en sangre de cordón (L/L) = HTOCOR.
  73. Hematocrito a las 12 horas de vida (L/L) = HTONEO.
  74. Hematíes maternos ( $\times 10^{12}$ /L) = HEMAT.
  75. Hematíes en sangre de cordón ( $\times 10^{12}$ /L) = HECOR.
  76. VCM materno (fL) = VCMAT.
  77. VCM en sangre de cordón (fL) = VCMCOR.
  78. Hemoglobina fetal en cordón (%) = HBFCORD.
  79. pH arteria umbilical = PHAU.
  80. pH en vena umbilical = PHVU.
  81.  $p\text{CO}_2$  en arteria umbilical (mmHg) =  $\text{PCO}_2\text{AU}$ .
  82.  $p\text{CO}_2$  en vena umbilical (mmHg) =  $\text{PCO}_2\text{VU}$ .
  83.  $p\text{O}_2$  arteria umbilical (mmHg) =  $\text{PO}_2\text{AU}$ .

84.  $pO_2$  en vena umbilical (mmHg) = PO2VU.
85. Exceso de Base en arteria umbilical (mmol/L) = EBAU.
86. Exceso de Base en vena umbilical (mmol/L) = EBVU.
87. Reticulocitos maternos (%) = RETMAT.
88. Reticulocitos en sangre de cordón (%) = RETCOR.

### B) VARIABLES TRANSFORMADAS

1. Relación peso placenta/fetal = RATIOPLA.  
$$RATIOPLA = PESPLA / PESRN$$
2. Desviación del peso neonatal respecto del peso p50 para su edad gestacional (%) = DESP5ORN.  
$$DESP5ORN = ((PESRN - PESP5ORN) / PESP5ORN) \times 100$$
3. Ratio molar insulina/glucosa materna en el parto = RIRIGMP.  
$$RIRIGMP = (IRIMATP / GLMATP) \times 12.42 \times 10^{-8}$$
4. Ratio molar C-péptido/glucosa materna en el parto = RCPGMP.  
$$RCPGMP = (CPMATP / GLMATP) \times 595.8 \times 10^{-8}$$
5. Ratio molar Glucagón /glucosa materna en el parto = RIRGGMP.  
$$RIRGGMP = (IRGMATP / GLMATP) \times 0.52 \times 10^{-8}$$
6. Ratio molar insulina/glucagón materno en el parto = RIRIRGMP.  
$$RIRIRGMP = (IRIMATP / IRGMATP) \times 24.04$$

7. Ratio molar C-péptido/glucagón materno en el parto =  
RCPIRGMP.

$$\text{RCPIRGMP} = (\text{CPMATP} / \text{IRGMATP}) \times 1153.31$$

8. Ratio molar insulina/glucosa en sangre de cordón = RIRIGSC.

$$\text{RIRIGSC} = (\text{IRICORD} / \text{GLCORD}) \times 12.42 \times 10^{-8}$$

9. Ratio molar C-péptido/glucosa en sangre de cordón =  
RCPGSC.

$$\text{RCPGSC} = (\text{CPCORD} / \text{GLCORD}) \times 595.8 \times 10^{-8}$$

10. Ratio molar Glucagón /glucosa en sangre de cordón =  
RIRGGSC.

$$\text{RIRGGSC} = (\text{IRGCORD} / \text{GLCORD}) \times 0.52 \times 10^{-8}$$

11. Ratio molar insulina/glucagón en sangre de cordón =  
RIRIRGSC.

$$\text{RIRIRGSC} = (\text{IRICORD} / \text{IRGCORD}) \times 24.04$$

12. Ratio molar C-péptido/glucagón en sangre de cordón =  
RCPIRGSC.

$$\text{RCPIRGSC} = (\text{CPCORD} / \text{IRGCORD}) \times 1153.31$$

### **3.5. TRATAMIENTO ESTADISTICO.**

#### **3.5.1. ESTRATEGIA GENERAL DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

El análisis estadístico ha sido realizado de forma que pueda recibir tratamiento informático y con el propósito de tomar decisiones sobre las hipótesis derivadas de las propuestas planteadas en los objetivos del trabajo.

Antes de proceder al estudio de las relaciones entre las variables incluídas en el trabajo, se estudian las características de cada una de ellas. Este primer paso, de tipo descriptivo, permite conocer la naturaleza y distribución del material y, por otro lado, aporta datos indirectos sobre la existencia de heterogeneidad dentro de la muestra y de posibles relaciones, no previstas en las hipótesis iniciales, cuyo estudio puede tener interés biométrico.

El segundo paso consiste en efectuar una descripción más detallada de las variables según el tipo de recién nacido, siendo la hipótesis nula ( $H_0$ ) la ausencia de diferencia entre las subpoblaciones y se incluyen la mayoría de las variables con significación funcional. Se analiza colateralmente la influencia de otros factores como el control metabólico materno, el tabaquismo, etc..

Se ha considerado suficiente aceptar un riesgo del 5% de cometer un error de tipo I al rechazar la hipótesis nula (riesgo  $\alpha$ ) por lo que las diferencias son estadísticamente significativas cuando la  $p$  asociada, para ensayos bilaterales sea menor de 0.05<sup>(220)</sup>.

### 3.5.2. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.

En las variables cualitativas se realiza el cálculo de la distribución de frecuencias en las diferentes clases o categorías de dichas variables. Para las variables cuantitativas o numéricas, se calculan las medidas de tendencia central (media aritmética, mediana y moda), las medidas de dispersión (rango, varianza y desviación estándar) y el error estándar de la media. El tipo de la distribución queda indirectamente reflejado por sus índices de simetría y apuntamiento ("skewness" y "kurtosis"), aunque la mejor manera de comprobar su normalidad consiste en aplicar la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Los procedimientos utilizados son FRECUENCIES, DESCRIPTIVES, MEANS Y NPAR TESTS/K-S del paquete SPSS/PC +<sup>(221)</sup>.

### 3.5.3. PRUEBAS DE HIPÓTESIS ESTADÍSTICA.

El análisis de la relación entre dos o más variables numéricas se efectúa mediante el ajuste al modelo lineal de regresión. La

---

intensidad de la relación estadística se cuantifica por el coeficiente de determinación, que es el coeficiente de correlación de Pearson (R) elevado al cuadrado, verificando el cumplimiento de las condiciones de aplicación a través del análisis de la distribución de los residuales. Se utilizan los procedimientos CORRELATION y REGRESSION del paquete SPSS/PC +<sup>(222)</sup>.

En el análisis de la relación entre variables cualitativas y cuantitativas, se comprueba la homogeneidad de las varianzas de los grupos que se comparan mediante el estudio de la significación del coeficiente F de Snedecor, en el caso de que intervenga una variable cualitativa de dos categorías; o las pruebas de Bartlett, C de Cochran y F máxima de Hartley, en el caso de variables de tres o más categorías. Si no se detectan diferencias entre las varianzas, se aplican las pruebas paramétricas correspondientes como la prueba T de Student-Fisher o el análisis de la varianza en sus diferentes formas. Para su cálculo se utilizan las subrutinas T-TEST, ONEWAY, ANOVA y MANOVA del paquete SPSS/PC +. En los casos en que no se verifica la homogeneidad entre las varianzas, se recurre a pruebas no paramétricas como la U de Mann-Witney para variables cualitativas de dos categorías, o el test de Kruskal-Wallis, en el caso de variables de tres o más categorías. La realización de estas pruebas se lleva a cabo mediante los procedimientos

---

correspondientes de la subrutina NPAR-TESTS del paquete SPSS/PC +<sup>(223)</sup>.

La prueba de relación entre dos variables cualitativas se efectúa mediante el análisis de las tablas de contingencia (n x k) correspondientes. Para este análisis se utiliza la prueba de chi-cuadrado ( $X^2$ ) con (n-1 x (K-1) grados de libertad. Cuando alguna de las frecuencias esperadas en la tabulación es inferior a 5 y superior a 3, y el formato de la tabla es de 2 x 2, se calcula el coeficiente de  $X^2$  con la corrección de Yates. En el resto de los casos de vulneración de las condiciones de aplicación de la prueba de  $X^2$  siempre que se trate en una tabla de 2 x 2, el grado de significación se obtiene del test exacto de Fisher basado en la distribución hipergeométrica. Los coeficientes de asociación, o de intensidad de relación, se expresan en cada caso con los diversos índices o pruebas atendiendo a la sensibilidad de la medida<sup>(214)</sup>. Todos estos estadísticos se obtienen de la subrutina CROSSTABS del paquete SPSS/PC +.

Por último, para realizar la predicción que permita clasificar a individuos en diversas categorías en función de una combinación de dos o más variables cuantitativas independientes, se obtienen los

---

parámetros de las funciones correspondientes mediante la técnica del análisis discriminante, basada en el teorema de Bayes. La subrutina de cálculo utilizada en este caso ha sido el procedimiento DSCRIMINANT del paquete SPSS/PC + <sup>(224)</sup>.

#### **3.5.4. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS.**

Para facilitar la comprensión de las tablas y con la finalidad de resumir al máximo el texto, en la tabla 3.2. se presentan el modelo y simbología utilizados para establecer las comparaciones intergrupos, cuando son enfrentados simultáneamente 3 grupos.

En la mayoría de los casos la clase 1 corresponde al **grupo control** de los recién nacidos, mientras que las clases 2 y 3 se refieren a los **grupos patológicos**.

En la zona A aparece el resultado de la significación del **análisis de la varianza** comparando simultáneamente los tres grupos. La zona B representa la significación de la prueba de comparación entre el grupo control y los grupos patológicos considerados en su conjunto. La zona C muestra la significación entre el grupo control y el primer grupo patológico. La zona D ofrece el resultado de la comparación



entre los dos grupos patológicos, y finalmente en la zona E es posible ver la significación de la prueba de comparación entre el grupo control y el segundo grupo patológico.

Para establecer la comparación entre **dos grupos independientes**, el modelo utilizado queda reflejado en la tabla 3.3.

<b>TABLA 3.2. MODELO UTILIZADO PARA LA COMPARACION DE DATOS INDEPENDIENTES</b>					
	<b>VARIABLE DISTRIBUTIVA</b>				
	<b>CLASE 1</b>		<b>CLASE 2</b>		<b>CLASE 3</b>
<b>VARIABLE SOMETIDA A ANALISIS</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>
Media					
EE					
Nº de casos					

<b>TABLA 3.3. MODELO UTILIZADO PARA LA COMPARACION DE DOS GRUPOS INDEPENDIENTES</b>				
<b>VARIABLE</b>		<b>1ª Variable sometida a análisis</b>	<b>2ª Variable sometida a análisis</b>	<b>3ª Variable sometida a análisis</b>
	<b>DISTRIBUTIVA</b>	<b>Clase 1</b> Media EE Nº de casos		
		<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>
<b>Clase 2</b> Media EE Nº de casos				

La significación de las pruebas está indicada mediante un símbolo, que se repite según el grado de ésta. Así tenemos:

\*: indica un p inferior a 0,05

\*\*: indica una p inferior a 0,01

\*\*\*: indica una p inferior a 0,005

\*\*\*\*: indica una p inferior a 0,001

El tipo de símbolo utilizado representa la prueba aplicada. Esto permite conocer si la estadística ha sido paramétrica o no paramétrica. Se han convenido los siguientes símbolos:

f : ANOVA (análisis de la varianza paramétrico)

k : Test de Kuskal-Wallis (Anova no paramétrico)

t : Prueba T de Sutdent para datos independientes

u : Prueba U de Mann Whitney

La ausencia de estos símbolos en el lugar correspondiente indica la falta de significación estadística para la situación analizada, y por tanto que no puee rechazarse la hipótesis nula, y se expresan mediante las iniciales NS (no significativo).