

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL MECONIO EN RECIÉN NACIDOS DE MADRES CON PREECLAMPSIA

Silvia Suárez¹, Santiago Cabrera², Maritza Mañuico³

RESUMEN

OBJETIVO: Determinar la capacidad antioxidante del meconio en recién nacidos de mujeres preeclámplicas. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Se obtuvo el primer meconio de los recién nacidos de embarazos normales y con preeclampsia (PE) leve, y antes de las doce horas fue llevado a liofilización, por un promedio de siete horas. **RESULTADOS:** En un total de 60 embarazos, el meconio humano resultó tener elevada capacidad de captar radicales libres, con $64,5\% \pm 19,0$ en embarazos normales y $43,6\% \pm 24,0$ en el grupo de PE, lo que da una diferencia significativa ($\alpha < 0,01$). Con relación al contenido de glutatión, los resultados fueron $15,6 \pm 3,8$ $\mu\text{mol/g}$ y $10,8 \pm 3,2$ $\mu\text{mol/g}$ de meconio para el grupo normal y con preeclampsia, respectivamente; y, con respecto a bilirrubina, $26,9 \pm 12,3$ en el grupo normal y $20,1 \pm 7,0$ en el grupo con PE. **CONCLUSIÓN:** El meconio parece ser un poderoso antioxidante, pero esta capacidad disminuye en embarazos complicados con preeclampsia.

Palabras clave: Meconio; Antioxidación; Preeclampsia; Radicales libres; Glutatión.

Ginecol Obstet (Perú) 2002; 48: 249-52

SUMMARY

OBJECTIVE: To determine preeclampsia newborns meconium antioxidant ability. **MATERIAL AND METHODS:** The first meconium was obtained from normal pregnancy and mild pre-eclampsia newborns and lyophilized within twelve hours during seven hours average. **RESULTS:** In 60 pregnancies human meconium showed high ability to capture free radicals, $64,5\% \pm 19,0$ in normal pregnancies and $43,6\% \pm 24,0$ in the pre-eclampsia group with significant difference ($\alpha < 0,01$). With regards to glutathione content, results were $15,6 \pm 3,8$ $\mu\text{mol/g}$ and $10,8 \pm 3,2$ $\mu\text{mol/g}$ of meconium for the normal and pre-eclampsia groups, respectively; and with respect to bilirubin, $26,9 \pm 12,3$ in the normal group and $20,1 \pm 7,0$ in the group with pre-eclampsia. **CONCLUSION:** Meconium appears to be a potent antioxidant, but this ability decreases in pregnancies complicated with pre-eclampsia.

Key words: Meconium; Antioxidation; Pre-eclampsia; Free radicals; Glutathione.

Ginecol Obstet (Perú) 2002; 48: 249-52

1. Centro de Investigación Bioquímica y Nutrición (CIBN), Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

2. Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina, UNMSM.

3. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Hospital Nacional Docente Madre Niño "San Bartolomé" y el CIBN de la UNMSM.

INTRODUCCIÓN

La preeclampsia es un trastorno multisistémico asociado a complicaciones maternas y fetales⁶. El feto puede sufrir las consecuencias durante el curso del embarazo, parto o después del nacimiento, existiendo insuficiencia placentaria y vasoespasmo generalizado, con disminución del flujo uteroplacentario, lo que ocasiona, entre otros, retardo de crecimiento intrauterino⁴.

La hipótesis más aceptada para explicar la patogénesis de esta enfermedad es la reducción de la perfusión placentaria, que generaría la liberación de ciertos factores a la circulación materna, produciendo disfunción vascular². Los factores promotores de la disfunción vascular parecen ser los radicales libres, que promueven la alteración funcional de las células endoteliales.

En el plasma de embarazadas con preeclampsia, se ha detectado un incremento de la peroxidación lipídica y disminución de los niveles de antioxidantes, debido a un estado de estrés oxidativo¹. Por este



motivo, la administración temprana de antioxidantes podría ser eficaz en la disminución del estrés oxidativo y en mejorar la función endotelial.

En el estrés oxidativo, las células expuestas presentan un desbalance entre el ambiente prooxidante (sistemas biológicos que provienen, en su mayoría, de las especies reactivas del oxígeno) y los mecanismos defensivos antioxidantes, de forma que llega a afectar el estado de redox celular².

El estrés intrauterino puede provocar el pasaje de meconio fetal al líquido amniótico⁵. El meconio es la primera descarga intestinal del recién nacido, cuya composición aún no está completamente estudiada, pero la literatura refiere que el meconio liofilizado tiene capacidad de captar radicales libres, debido a la presencia de antioxidantes endógenos⁵.

El organismo dispone de sistemas defensivos antioxidantes endógenos y exógenos, con o sin características enzimáticas. Entre los primeros estarían la superóxido dismutasa (mitocondrial, citoplasmática y extracelular), la catalasa y el complejo glutatión peroxidasa-reductasa. Entre los no enzimáticos, estarían las vitaminas antioxidantes A, C y E, el glutatión y otros compuestos con tioles reducidos, albúmina, ácido úrico, bilirrubina y proteínas captadoras de hierro y cobre³.

Se realiza el presente trabajo de investigación para determinar la capacidad antioxidante del meconio del recién nacido de embarazos con preeclampsia, estableciendo su capacidad de captar radicales libres y el contenido de glutatión y bilirrubina.

MATERIALES Y MÉTODO

Se recogió el primer meconio del recién nacido de partos normales y con preeclampsia, cuyos diagnósticos fueron realizados en el Hospital San Bartolomé de Lima, con un total de 60 embarazos.

Las muestras de meconio recolectadas, antes de las 12 horas fueron llevadas al congelador del Centro de Investigación Bioquímica y Nutrición (CIBN) de la UNMSM, donde fueron congeladas a menos 20 °C por un espacio no mayor de 5 días; luego fueron liofilizadas por un promedio de 7 horas.

Las muestras liofilizadas fueron disueltas en cloruro de sodio (NaCl) al 0,9%, determinándose los siguientes ensayos.

Captación de radicales libres con la decoloración del DPPH

Para la búsqueda de agentes atrapadores de radicales libres se emplea un bioensayo *in vitro* en el que el radical libre 2,2 difenil-1-picril hidrazilo hidratado (DPPH), de color violeta intenso, al ser capturado pierde su color característico.

Las muestras de meconio liofilizadas fueron determinadas con el reactivo DPPH y leídas a una absorbancia visible de 517 nm.

Determinación de glutatión con el reactivo DTNB

La determinación del glutatión total se realizó mediante la reacción con el DTNB (ácido 5,5'-ditio bis-2 nitrobenzoico), previa precipitación de las proteínas con el ácido tricloroacético al 100% y, posteriormente, reducción de los grupos sulfhidrilos con la vitamina C y el ácido glioxílico.

Las muestras de meconio liofilizadas fueron disueltas en NaCl al 0,9% y liberadas las proteínas con ácido tricloroacético al 100%; la reducción total de glutatión se consiguió añadiéndole al tubo una mezcla de ácido ascórbico y ácido glioxílico, y la formación de un color amarillo, por reacción con el DTNB; se leyó a una longitud de onda de 412 nm.

Determinación de bilirrubina

La bilirrubina reacciona específicamente con el ácido sulfanílico diazotado, produciendo un pigmento de color rojo-violáceo (azo-bilirrubina), que se mide espectrofotométricamente a 530 nm. El procedimiento se observa en la Tabla 1.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos del análisis de captación de radicales libres y glutatión fueron analizados por información estadística significativa (prueba t de Student). También se usó histogramas, en casos de prevalencia de la preeclampsia.

Tabla 1. Procedimiento de determinación de bilirrubina.

Reactivos	Blanco	Total
• Muestra (meconio)	1,0 mL	1,0 mL
• Agua destilada	1,5 mL	-
• Desarrollador	-	1,5 mL
• Reactivo sulfanílico	0,2 mL	-
• Diazorreactivo	-	0,2 mL



Tabla 2. Distribución de los niveles de glutatión, bilirrubina y DPPH en el meconio en los recién nacidos de los grupos normal y con preeclampsia.

	Total	% de inhibición	Glutatión	Bilirrubina
			($\mu\text{mol/g}$)	(mg/g)
			ME \pm DE	ME \pm DE
• Normal	30	64,5 \pm 19,0	15,7 \pm 3,8	26,9 \pm 12,3
• Preeclampsia	30	43,6 \pm 24,0	10,8 \pm 3,2	20,1 \pm 7,0

RESULTADOS

En la Tabla 2 se observa la distribución de glutatión y DPPH del meconio en los grupos estudiados. La capacidad de captar el radical libre difenilpicrilhidrazilo hidratado (DPPH) en el meconio de neonatos de embarazos normales es significativamente mayor al grupo proveniente de madres con preeclampsia.

En la Figura se muestra que la capacidad de captar el radical libre difenilpicrilhidrazilo hidratado (DPPH) en el meconio de neonatos de embarazos normales es significativamente mayor al grupo proveniente de madres con preeclampsia. Así mismo, se observa que el contenido de glutatión y de bilirrubina en el grupo normal es significativamente mayor al del grupo de preeclampsia, con $\alpha < 0,05$.

Figura. Capacidad antioxidante, contenido de glutatión y bilirrubina en meconio de neonatos de embarazos normales y con preeclampsia; $\alpha < 0,05$.

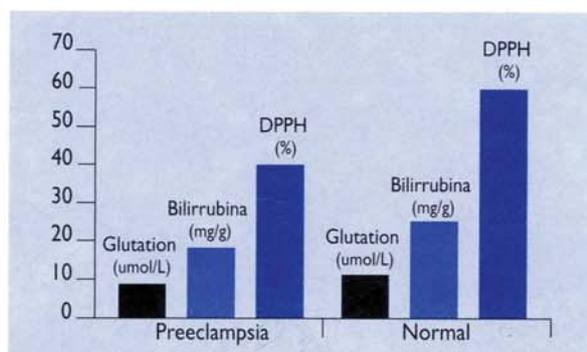


Figura 1. Capacidad antioxidante, contenido de glutatión y bilirrubina en meconio de neonato de embarazos normales y con preeclampsia; $\alpha < 0,05$.

DISCUSIÓN

En un estudio previo (Jornada de Salud 1999–2000) hemos demostrado que el estrés oxidativo compromete la unidad madre-placenta-feto, en casos de preeclampsia.

Las madres que tienen PE, generalmente tiene bebés más pequeños. Estos neonatos pueden sufrir complicaciones, como el síndrome de aspiración del meconio.

Estudios realizados por Kaapa y col. (1997) demostraron que el meconio posee potentes propiedades antioxidantes, probablemente debido al contenido de glutatión, bilirrubina y otros antioxidantes endógenos.

En el presente estudio nuestros resultados concuerdan con los de Kaapa. Hemos hallado esta potente capacidad antioxidante en meconio de embarazos normales. Sin embargo, esta capacidad está disminuida en los meconios de neonatos provenientes de embarazos con PE (Figura 1). Kaapa y col. especulan que el meconio tendría un rol fisiológico importante como antioxidante endógeno durante la transición perinatal.

Retomando esta propuesta, lo hallado en nuestro estudio demostraría que ese rol antioxidante del meconio en los casos de PE es menor comparado al control, lo cual se produciría por el consumo de antioxidantes en el proceso patológico, como un mecanismo de defensa, teniendo en cuenta que esta patología puede empezar a manifestarse desde el segundo trimestre y que la totalidad de los casos correspondieron a casos de PE leve.

La disminución del contenido de glutatión siguió el mismo perfil que la capacidad captadora de radicales libres. El glutatión es un metabolito antioxidante ubicuo; no se trata sólo de un metabolito que reaccione directamente con los radicales libres, sino también es destacado su papel de cosustrato en la actividad de la glutatión peroxidasa y en la fase de conjugación de los procesos de detoxificación, como parte de la actividad de la glutatión S-transferasa. No se encontró literatura que reporte su presencia en meconio. Sin embargo, nuestro hallazgo es perfectamente entendible, dado su múltiple papel antioxidante. Su disminución en procesos de preeclampsia sería porque parte de la capacidad captadora de radicales libres está restringida en esta patología.



Los resultados obtenidos en el contenido de bilirrubina en el meconio liofilizado (Figura 1) también muestra una disminución significativa en el grupo patológico. Estudios recientes señalan la acción protectora de la bilirrubina frente a los radicales libres^{6,7}. Benaron y col.⁸ manifiestan que la alta frecuencia del incremento de bilirrubina sérica en recién nacidos puede tener una función positiva. Si esto lo extrapolamos a nuestra muestra biológica, es aceptable el hecho que el grupo normal exhiba niveles más altos que el grupo patológico que está sometido a un proceso de estrés oxidativo, donde se ha producido una disminución significativa en su sistema antioxidante.

Observando la figura se puede decir que la capacidad disminuida en la captación de radicales libres en los meconios de recién nacidos de embarazos con PE puede explicarse por los contenidos disminuidos de los dos metabolitos endógenos, glutatión y bilirrubina; sin que ello signifique la negación de otros posibles antioxidantes presentes en el meconio.

Se puede concluir que el potencial antioxidante del meconio de neonatos asociados a PE está disminuido en comparación al grupo control y que el glutatión y la bilirrubina, como antioxidantes endógenos en el meconio, se consume en el feto de madre preecláptica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dekker GA, Tubbergen P. Change in paternity: A risk factor for preeclampsia in multiparous women. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 178: 5120.
2. Hubel R, et al. Is oxidative stress the link in the two stage model of preeclampsia. *Lancet* 1999.
3. Iann F, et al. *The Handbook of Oxidative Metabolism*. ESA, INC. 1998.
4. Kaapa R, et al. Human meconium has potent antioxidative properties. *Biol Neonate*, University of Turku, Finland. 1997.
5. Karger S, Basel A. Human meconium: her potent antioxidant properties. *Biology of Neonatal Research, Abstract*, 2000; 72(2): 671.
6. Mongrut A. *Tratado de Obstetricia*, 4a. Edición, Lima – Perú, 1989.
7. Paredes C. Controversias sobre el papel antioxidante de la bilirrubina en la etapa perinatal. *Hospital Clínico Universitario*, Valencia, España. 2000.
8. Benaron DA, et al. Variation of initial serum bilirubin rise in newborn infants with type of illness. *The Lancet* 1991; 338(8765): 78-81.