



**COMPORTAMIENTO METABÓLICO DE LA PROTEÍNA S100B COMO  
POSIBLE BIOMARCADOR DIAGNÓSTICO EN PACIENTES CON RIESGO DE  
ASFIXIA PERINATAL: UN ESTUDIO DESCRIPTIVO**

**HENRY MAURICIO CHAPARRO-SOLANO**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO  
ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**UNIVERSIDAD CES  
FACULTAD DE MEDICINA**

**ESPECIALIZACIÓN EN EPIDEMIOLOGÍA**

**BOGOTÁ D.C**

**2020**

**COMPORTAMIENTO METABÓLICO DE LA PROTEÍNA S100B COMO  
POSIBLE BIOMARCADOR DIAGNÓSTICO EN PACIENTES CON RIESGO DE  
ASFIXIA PERINATAL: UN ESTUDIO DESCRIPTIVO**

**HENRY MAURICIO CHAPARRO-SOLANO**  
henry.chaparro@urosario.edu.co

**TRABAJO DE GRADO**  
Presentado como requisito parcial para optar al título de  
**ESPECIALISTA EN EPIDEMIOLOGÍA**

**TUTOR TEMÁTICO**  
**LILIA DEL RIESGO-PRENDES, MD, MSc**  
lilia.delriesgo@urosario.edu.co

**TUTOR METODOLÓGICO**  
**ÁNGELA MARÍA RUIZ-STERNBERG, MD, MSc**  
angela.ruiz@urosario.edu.co

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE NUESTRA SEÑORA DEL ROSARIO**  
**ESCUELA DE MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD**

**UNIVERSIDAD CES**  
**FACULTAD DE MEDICINA**

**ESPECIALIZACIÓN EN EPIDEMIOLOGÍA**

**BOGOTÁ D.C**

**2020**

## **NOTA DE SALVEDAD DE RESPONSABILIDAD INSTITUCIONAL**

“La Universidad del Rosario y la Universidad CES no se hacen responsables de los conceptos emitidos por los investigadores en su trabajo, solo velará por el rigor científico, metodológico y ético del mismo en aras de la búsqueda de la verdad y la justicia”.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, amigos y maestros.

A ambas Instituciones por sus cuerpos profesoriales y administrativos que hicieron posible el desarrollo exitoso del Programa.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	9
ABSTRACT.....	10
1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	11
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
1.2 JUSTIFICACIÓN.....	12
1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	14
2. MARCO TEÓRICO.....	15
2.1 ASFIXIA PERINATAL.....	15
2.2 HERRAMIENTAS DIAGNÓSTICAS PARA LA ASFIXIA PERINATAL.....	16
2.3 ENCEFALOPATÍA HIPÓXICO ISQUÉMICA COMO DESENLACE DE LA ASFIXIA PERINATAL.....	17
2.3.1 FISIOPATOLOGÍA DE LA ENCEFALOPATÍA HIPÓXICO ISQUÉMICA.....	18
2.3.2 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENCEFALOPATÍA HIPÓXICO ISQUÉMICA.....	20
2.4 BIOMARCADORES DIAGNÓSTICOS EN ASFIXIA PERINATAL.....	21
2.4.1 PROTEÍNA S100B.....	21
2.4.2 PROTEÍNA S100B EN MEDICINA PERINATAL.....	23
3. HIPÓTESIS.....	26
4. OBJETIVOS.....	27
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	27
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
5. METODOLOGÍA.....	28
5.1 TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO.....	28
5.2 POBLACIÓN EN ESTUDIO.....	28
5.3 DISEÑO MUESTRAL.....	29
5.4 DESCRIPCIÓN DE VARIABLES.....	29
5.4.1 DIAGRAMA DE VARIABLES.....	29
5.4.2 TABLA DE VARIABLES.....	30
5.5 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	32
5.5.1 FUENTES DE INFORMACIÓN.....	32
5.5.2 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	33
5.5.3 PROCESO DE OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN.....	33

<b>5.6 CONTROL DE ERRORES Y SEGOS .....</b>	<b>34</b>
<b>5.7 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....</b>	<b>34</b>
<b>6. CONSIDERACIONES ÉTICAS .....</b>	<b>36</b>
<b>7. RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>8. DISCUSIÓN.....</b>	<b>44</b>
<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>49</b>

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1. Diagrama de variables.....</b>	<b>29</b>
<b>Gráfico 2. Procedimiento de recolección de muestras y datos.....</b>	<b>32</b>
<b>Gráfico 3. Gráfico de cajas y bigotes y distribución de la variable edad materna en años.....</b>	<b>37</b>
<b>Gráfico 4. Gráfico de cajas y bigotes y distribución de la variable edad gestacional en semanas.....</b>	<b>38</b>
<b>Gráfico 5. Gráfico de cajas y bigotes para las variables dependientes medición de la proteína S100B a las 12 y 48 horas.....</b>	<b>41</b>
<b>Gráfico 6. Diagrama de correlación entre las variables independientes y la base exceso y el pH de cordón.....</b>	<b>42</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1. Tabla de variables.....</b>	<b>30</b>
<b>Tabla 2. Errores, sesgos y controles.....</b>	<b>34</b>
<b>Tabla 3. Resultado al análisis de las variables continuas.....</b>	<b>39</b>
<b>Tabla 4. Distribución de frecuencia absoluta de los pacientes de acuerdo con el puntaje Apgar al minuto 1, 5 y 10 posterior al nacimiento.....</b>	<b>40</b>
<b>Tabla 5. Resultado de variables categóricas nominales.....</b>	<b>41</b>

## RESUMEN

**Introducción:** La asfixia perinatal (AP) genera una importante morbimortalidad neonatal en el mundo. Actualmente no existe un parámetro que permita medir el daño neurológico posterior a un evento de AP en su fase precoz. Aunque la proteína neuronal S100B cuenta con alto potencial para alcanzar dicho objetivo, las investigaciones realizadas a la fecha no han sido concluyentes. **Objetivo:** Determinar si la medición de la proteína S100B en suero de sangre periférica, a las 12 y 48 horas después del nacimiento, es un biomarcador útil en el diagnóstico de pacientes con riesgo de AP. **Metodología:** Se realizó un estudio de corte transversal, en un hospital de alta complejidad en Bogotá, entre junio de 2017 y julio de 2018. Se incluyeron pacientes que cumplieron con al menos uno de los criterios de inclusión para AP de acuerdo con la ACOG (n=23), realizándoles cuantificación sérica de la S100B. Se exploraron posibles asociaciones estadísticas entre las variables clínicas y el comportamiento metabólico de la proteína. **Resultados:** El promedio de medición de la proteína a las 12 horas (23,85) fue levemente superior en comparación al de las 48 horas (16,11); sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos momentos. Se evidenció una dependencia de variables entre “proteína a las 48 horas” y “género del neonato” ( $p < 0,05$ ). **Conclusiones:** Los niveles séricos de S100B pueden ser utilizados como biomarcador diagnóstico de AP; sin embargo, se requiere de otros estudios de investigación con mayores tamaños de muestra que permitan validar los resultados obtenidos.

### **Palabras clave:**

Perinatología; bioquímica; asfixia; proteína S100B

## ABSTRACT

**Introduction:** Perinatal asphyxia (PA) causes significant neonatal morbidity and mortality worldwide. Currently, there is no parameter to measure the neurological damage after a PA event in its early phase. Although the neuronal protein S100B has high potential to achieve this goal, research to date has been inconclusive.

**Objective:** Determine whether the measurement of S100B in peripheral blood serum, at 12 and 48 hours after birth, is a useful biomarker in the diagnosis of patients at risk of PA.

**Methodology:** A cross-sectional study was carried out in a high complexity hospital in Bogotá between June 2017 and July 2018. Patients who met at least one of the inclusion criteria for PA according to ACOG (n=23) were included. Serum quantification of S100B was performed to all of them. Possible statistical associations between clinical variables and protein metabolic behavior were explored.

**Results:** The average protein measurement at 12 hours (23.85) was slightly higher than at 48 hours (16.11); however, there was no statistically significant difference between both times. There was a variable dependence between "protein at 48 hours" and "gender of the newborn". ( $p < 0,05$ ).

**Conclusions:** Serum levels of S100B can be used as a diagnostic biomarker of PA; however, other research studies with larger sample sizes are required to validate the results obtained.

### Key Words:

Perinatology; biochemistry; asphyxia; S100B protein

## **1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La asfixia perinatal afecta alrededor de 4 a 9 millones de neonatos en el mundo y causa el 20% de muertes neonatales y el 8% de fallecimientos en menores de 5 años (1). La problemática no es ajena para nuestra región y las estadísticas reportadas no distan de lo mencionado anteriormente. Para 2010, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) informó que el 29% de las muertes en los países de América Latina y el Caribe eran producto de esta condición, con una tasa específica para Colombia de 8 muertes por cada mil nacidos vivos. Si bien la reducción de la mortalidad infantil fue uno de los Objetivos del Milenio, las metas trazadas no se alcanzaron en su totalidad, lo que ha llevado a que se mantenga en el tiempo como una problemática de interés mundial que debe ser rápidamente intervenida. Evidencia de lo anterior, es la razón por cual actualmente en el objetivo tres de los “Objetivos de Desarrollo Sostenible, se han incluido acciones específicas que buscan asegurar la salud infantil. De lograrse un adecuado control, entendiendo este como prevención de los factores de riesgo, diagnóstico y tratamiento de la asfixia perinatal, se lograría de manera colateral la consecución de las metas definidas en el objetivo mencionado previamente (2).

Aunque la mayoría de los pacientes se recuperan satisfactoriamente de los episodios de asfixia perinatal, algunos de ellos pueden desarrollar encefalopatía hipóxico isquémica (EHI), como el desenlace de mayor gravedad, llevando a condiciones de daño neurológico irreversible que impactan la calidad de vida de los pacientes y sus familiares, las cuales a su vez generan gastos elevados a los

estados derivados del tratamiento prolongado, pero necesario, de este grupo poblacional. Por otra parte, muchos presentan alteraciones neurológicas menos severas las cuales únicamente resultan evidentes en el momento de comenzar la etapa escolar (1).

Actualmente, el diagnóstico de la asfixia perinatal se realiza por medio de escalas de evaluación aplicadas por el personal de salud; sin embargo, el componente subjetivo alrededor de la herramienta genera un sub registro de los eventos debido a la variabilidad en la interpretación de dichas escalas y, como consecuencia, una no implementación oportuna del tratamiento llevando a la aparición de complicaciones irreversibles, como la ya mencionada EHI (3).

## **1.2 JUSTIFICACIÓN**

A pesar de que la asfixia perinatal es la principal causa de muerte en el periodo neonatal temprano, actualmente no se cuenta con una herramienta diagnóstica objetiva que permita su identificación de manera oportuna (4).

Los eventos metabólicos que ocurren alrededor de la asfixia perinatal, sugieren la posibilidad de que un biomarcador en sangre puede resultar útil para el diagnóstico y pronóstico de estos pacientes; sin embargo, a la fecha no existe un protocolo que permita conocer, a partir del estudio de biomarcadores de este tipo, la identificación temprana de daño tisular a nivel del sistema nervioso central el cual se correlaciona con efectos negativos en el neurodesarrollo de los niños que sufren de este tipo de episodios (5).

La proteína S100B, ya estudiada previamente como uno de estos biomarcadores, no ha arrojado resultados concluyentes al ser medida al momento del nacimiento en niños con asfixia perinatal (6–9). Estudios recientes han demostrado que la elevación de la proteína puede tardar algunas horas. Por ejemplo, en un meta-análisis realizado por Qio-Luo y colaboradores, se presenta evidencia en donde el pico de detección en suero de la S100B ocurre después de 12 horas e incluso, en algunos casos, entre 48 y 72 horas (10).

Lo anterior, permite suponer que su cuantificación en ventanas de tiempo distintas a las definidas en estudios previos, específicamente 12 y 48 horas, puede arrojar resultados satisfactorios. Adicionalmente, de darse dichos resultados, la asociación de su comportamiento con otras variables paraclínicas, como los niveles de pH y base exceso en gases arteriales al momento del nacimiento, alteraciones en el monitoreo fetal, entre otras, permitirán identificar rápidamente aquellos pacientes que se verían beneficiados de su medición.

De alcanzarse los resultados esperados por medio del presente proyecto de investigación, será posible proponer la utilización de esta proteína como un biomarcador temprano útil en el diagnóstico y pronóstico metabólico de niños con asfixia perinatal, el cual conduciría a una identificación e instauración de tratamiento oportunos, reduciendo así la incidencia de complicaciones neurológicas y multiorgánicas consecuencia de la EIH, como lo son epilepsia, retraso en el desarrollo neurológico, parálisis cerebral y muerte, condiciones que tienen considerables impactos para las economías, institucionales, nacionales e internacionales y los indicadores de desarrollo y sostenibilidad de los países (11).

### **1.3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Es la medición de la proteína S100B sérica a las 12 y 48 horas después del nacimiento un biomarcador útil en el diagnóstico de pacientes con riesgo de asfixia perinatal?

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 ASFIXIA PERINATAL

La AP se define como la supresión del flujo de oxígeno al feto durante el nacimiento como consecuencia de diversos eventos perinatales, dentro de los cuales se incluyen: la hemorragia fetal o materna, la compresión aguda o intermitente del cordón umbilical, la ruptura uterina, la distocia de hombros, entre otros, asociado a grados variables de hipercapnia y acidosis metabólica (1). Una vez ocurrido el evento, la asfixia, y más específicamente la hipoxia tisular, conlleva al daño progresivo e incluso irreversible de diferentes órganos y sistemas. La frecuencia de afectación es distinta, siendo la injuria renal la más común (50%), seguida de la cerebral (28%), la cardiovascular (25%) y la pulmonar (23%) (12).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, la mortalidad durante el periodo neonatal corresponde al 44% del total de las muertes en menores de 5 años, principalmente como resultado de dos eventos en particular: las complicaciones durante el parto y la AP (2).

La AP es un evento relativamente común, especialmente en los países en vía de desarrollo, representando en esos territorios el 21% de todas las muertes neonatales, con una incidencia de 2 a 27 por cada 1000 nacidos vivos, esta última dependiendo del país y los criterios utilizados para su medición y diagnóstico. Según lo reportado por la Secretaría de Salud de Bogotá, para 2014 el 6.4% de muertes neonatales registradas en el Distrito, fueron causadas por AP, convirtiéndose de esta manera, en la cuarta causa de muerte en este grupo poblacional (1).

Se han descrito dos estadios de muerte neuronal durante la AP, conocidos como primera y segunda fase, esta segunda en algunos casos recibe el nombre de “retrasada”. Ambas son el resultado de la excitotoxicidad, la apoptosis y las acciones citotóxicas producto de la activación de la microglía. Evidencia reciente, demuestra que el grado de falla energética neuronal que se registra entre las 24 y 48 horas posterior al evento, es decir durante la segunda fase, puede fuertemente predecir los desenlaces en el neurodesarrollo del infante (11).

## **2.2 HERRAMIENTAS DIAGNÓSTICAS PARA LA ASFIXIA PERINATAL**

De acuerdo con los criterios definidos por el Colegio Americano de Obstetricia y Ginecología en 2002, ACOG por sus siglas en inglés, para el diagnóstico de AP debe haber cumplimiento de los siguiente cuatro criterios esenciales:

1. Acidosis metabólica  $\text{pH} < 7.0$ , base exceso mayor o igual a 12 en sangre arterial de cordón umbilical
2. Aparición temprana de encefalopatía neonatal grave o moderada en recién nacidos de 34 o más semanas de gestación
3. Parálisis cerebral de cuadriplejía espástica o de tipo discinético
4. Exclusión de otras posibles etiologías como, por ejemplo, trauma, trastornos de la coagulación, procesos infecciosos o alteraciones genéticas

A los anteriores, la ACOG ha sumado otros cinco criterios, no esenciales, que de manera colectiva sugieren que ha ocurrido asfixia perinatal:

1. Evento centinela intraparto
2. Cambios abruptos en la frecuencia cardíaca fetal (por ejemplo, bradicardia fetal sostenida)

3. Apgar menor o igual a 3 más allá de los cinco minutos después del nacimiento
4. Falla multiorgánica después de las 72 horas de vida
5. Cambios imagenológicos tempranos

Los indicadores clínicos de la severidad de la asfixia, como el grado de depresión neurológica o la presencia de acidosis metabólica después del nacimiento, a pesar de ser algunos de lo más usados por razones de asequibilidad y costos, son predictores imprecisos del desenlace neurológico a causa de baja especificidad y sensibilidad (13).

La constante y no resuelta necesidad de herramientas diagnósticas precisas y objetivas que permitan la implementación de tratamiento de manera temprana, ha llevado a que diversos grupos de investigación propongan la utilización de la resonancia magnética por espectroscopia, la electroencefalografía y la cuantificación de marcadores en biofluidos como sangre y orina, entre otras posibilidades, como soluciones tentativas a este reto clínico. Desafortunadamente, ninguna de las propuestas ha sido del todo validada, lo que ha generado que la investigación y debate alrededor del tema se mantengan vigentes (12).

### **2.3 ENCEFALOPATÍA HIPÓXICO ISQUÉMICA COMO DESENLACE DE LA ASFIXIA PERINATAL**

Si bien un buen número de pacientes se recuperan adecuadamente de los episodios de hipoxia, algunos de estos desarrollan encefalopatía hipóxico isquémica (EHI) como consecuencia de la severidad y la duración del cuadro asfíctico (1).

La EHI es la principal causa de discapacidad cerebral, incluso con la utilización actual de hipotermia como tratamiento preventivo a las secuelas de la AP. Su

incidencia puede ir desde 8 por cada 1000 nacidos vivos hasta 26 por cada 1000 nacidos vivos, en países desarrollados y en vía de desarrollo, respectivamente, y representa el indicador más confiable, y a su vez nefasto, de asfixia severa. Tanto desenlaces severos como leves han sido asociados a la EHI, dentro de los cuales se incluyen: trastornos del aprendizaje, discapacidad visual o auditiva, deterioro cognitivo, parálisis cerebral y muerte (1,3).

### **2.3.1 FISIOPATOLOGÍA DE LA ENCEFALOPATÍA HIPÓXICO ISQUÉMICA**

En condiciones adecuadas, el flujo de sangre hacia el cerebro del feto asegura un suplemento de oxígeno y glucosa que permite alcanzar niveles energéticos adecuados y, junto con ello, una homeostasis tisular. Cuando ocurre una hipoxia moderada, las arterias cerebrales realizan un *shunt* de la circulación anterior hacia regiones posteriores permitiendo que la irrigación de cerebelo, tallo y ganglios basales se mantenga y llevando a que únicamente la corteza y algunas regiones de los hemisferios cerebrales resulten afectadas (14).

Una vez ocurre el evento que conduce a la interrupción del flujo sanguíneo, se inicia una cascada de lesiones que avanzan con el tiempo. Como primera fase, dada la ausencia de oxígeno y glucosa en el cerebro, se da la activación de un metabolismo anaerobio el cual produce aumento en las concentraciones de ácido láctico y disminución del adenosin trifosfato (ATP por sus siglas en inglés), esta última molécula, es fundamental para el transporte transmembranal, es decir que su ausencia conlleva a la detención del funcionamiento de las bombas dependientes de ATP, lo que causa la acumulación de sodio, agua y calcio al interior de las células. La despolarización de la membrana genera la liberación de glutamato, un

neurotransmisor excitatorio, el cual activa canales dependientes del mismo, que aumentan aún más la concentración de calcio. Este último proceso recibe el nombre de excitotoxicidad (4). La falla en la llegada de oxígeno por la hipoxia-isquemia, causa una disfunción mitocondrial que genera acúmulo de especies reactivas de oxígeno. Este evento se asocia a la menor defensa antioxidante por la falla en la síntesis de la superóxido dismutasa mitocondrial, así como por la menor disponibilidad mitocondrial de NADPH, cofactor imprescindible para el aporte necesario del glutati6n reducido. Por 6ltimo, la liberaci6n exagerada de 6xido n6trico, como respuesta a la activaci6n de la enzima 6xido n6trico sintasa neuronal debida al fen6meno asf6ctico, sumado a los otros eventos ya descritos, conduce a muerte celular definitiva por medio de necrosis y activaci6n de v6as de se6alizacion apopt6ticas (3).

Dependiendo del tiempo que transcurre desde el momento de interrupci6n de flujo sangu6neo hasta la restituci6n del mismo y el grado de 6xito e inmediatez en la implementaci6n de medidas resolutivas, puede darse una recuperaci6n parcial del tejido en los primeros 60 minutos despu6s de instaurado el evento. De ocurrir lo mencionado, la lesi6n ingresa en una fase latente, la cual puede tener una duraci6n de una a seis horas, y est6 caracterizada por la recuperaci6n del metabolismo oxidativo, la reducci6n de la inflamaci6n y la continuaci6n de las cascadas apopt6ticas ya activadas (15). En otros casos cuando se permite el continuo desarrollo de la lesi6n, ocurre un deterioro secundario acompa6ado por edema citot6xico, la ya descrita excitotoxicidad y la detenci6n parcial de las funciones mitocondriales; por lo general, durante esta fase los pacientes presentan

convulsiones. Finalmente, una tercera fase sucede meses después, en la cual se da una muerte celular tardía y la remodelación del tejido afectado (16).

### **2.3.2 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA ENCEFALOPATÍA HIPÓXICO ISQUÉMICA**

El diagnóstico clínico de la EHI se realiza a través de la identificación de diversos hallazgos al examen físico sugestivos de disfunción neurológica, dentro de los cuales se destacan: disminución del estado de conciencia, depresión respiratoria, anormalidades en el tono muscular, alteraciones en la función de los pares craneales y convulsiones. Lo anterior, debe ir acompañado de evidencia de un puntaje de Apgar bajo y acidosis metabólica, este último medido en la sangre arterial de cordón umbilical (17).

La elevación de biomarcadores séricos de daño orgánico (transaminasas, creatinina, troponina) asociada a la aparición de patrones imagenológicos en la resonancia magnética cerebral, los cuales suelen aparecer de forma tardía una vez ha ocurrido el evento, pueden confirmar con mayor fuerza el diagnóstico de EHI (18).

La subsecuente EHI posterior a la hipoxia, puede ser clasificada en leve, moderada o severa por medio de la escala de Sarnat, la cual está basada en el estado de conciencia, la actividad espontánea, el tono muscular, el comportamiento de los reflejos, la función autonómica, la presencia de convulsiones, hallazgos electroencefalográficos y duración del cuadro clínico (18).

## **2.4 BIOMARCADORES DIAGNÓSTICOS EN ASFIXIA PERINATAL**

El daño celular producto de la AP, y subsecuente EHI, conlleva la muerte de células neuronales a través de las vías de señalización que conducen a necrosis y apoptosis. Estos dos procesos dependen de la expresión de proteínas, algunas de estas exclusivas del tejido neuronal, las cuales son liberadas en sangre. Es por esto que diversos grupos de investigación han explorado la cuantificación de proteínas específicas de este tejido en diferentes fluidos biológicos como una herramienta diagnóstica y de monitorización de la presencia y evolución de eventos que resulten en daño cerebral neonatal posterior a la asfixia perinatal (13). Este tipo de biomarcadores representan una ventaja frente a las otras herramientas diagnósticas hoy en día utilizadas, como la resonancia magnética cerebral o electroencefalograma, pues no requieren movilizar pacientes, ejercicio que puede resultar contraproducente en aquellos neonatos en condiciones de cuidado crítico. Moléculas como la ubiquitina esterasa carboxilo terminal L1 (UCH-L1), el factor de transcripción AP-1, la proteína ácida fibrilar glial y la proteína S100B, entre otras, han sido previamente estudiadas como candidatas a biomarcador diagnóstico (3).

### **2.4.1 PROTEÍNA S100B**

Las S100 es una familia multigénica de 25 proteínas fijadoras de calcio, que reciben su nombre por su solubilidad al 100% en soluciones saturadas con sulfato de amonio, la mayoría presenta estructura dimérica y con una alta homología entre sí por sus componentes aminoácidos. Se ha evidenciado que este grupo de proteínas ha estado altamente conservado durante la evolución de diversos

vertebrados, sugiriendo que su participación en la preservación de algunas funciones biológicas ha sido y sigue siendo fundamental (7).

La S100B, es una proteína citosólica, miembro de esta familia, compuesta por dos monómeros, alfa (A) y beta (B), en diferentes combinaciones. La combinación BB y AB, se encuentran principalmente en células gliales y otras subpoblaciones neuronales, así como, en menor medida, en tejidos extraneuronales como condrocitos, células dendríticas, melanocitos, entre otros. Debido a que su peso molecular es 21 kDa, su identificación en sangre periférica únicamente es posible cuando previamente se ha presentado una disrupción de la barrera hematoencefálica, lo que la ha convertido en un candidato interesante para el estudio de lesiones en el sistema nervioso central (8).

Aun cuando se han planteado y desarrollado diversas hipótesis sobre las funciones biológicas de la S100B, a la fecha se sabe que su rol varía significativamente dependiendo del tipo de célula encargada de su síntesis (cuando se habla de acciones intracelulares), así como de la cantidad secretada y el nivel al cual se sucedan sus acciones moleculares (autocrino, paracrino y endocrino). Por ejemplo, cuando la producción de la proteína es realizada por astrocitos a bajas concentraciones (nanomolares), presenta efectos neurotróficos asociados al desarrollo neuronal, como lo son la interconexión y regeneración tisular, el ensamblaje de componentes del citoesqueleto, la supervivencia y diferenciación neuronal, la regulación de algunas actividades enzimática, entre otros. Por otro lado, las altas concentraciones (micromolares), están asociadas con una hiperestimulación de la enzima óxido nítrico sintasa que, al aumentar la liberación de óxido nítrico (NO) en astrocitos y microglía, induce la producción de especies reactivas de oxígeno, la perturbación

del homeostasis lipídica, la detención del ciclo celular y, finalmente, la muerte de esta población celular. Es importante resaltar que, para dar cumplimiento a todas estas funciones, previamente la proteína debe llevar a cabo una modificación conformacional dependiente de su unión a iones de calcio (19).

A nivel extracelular, la S100B activa una serie de cascadas de señalización por medio de su unión a los receptores multiligando para los productos finales de glicosilación avanzada (RAGE por sus siglas en inglés). La participación de estos receptos en diversos procesos inmunológicos ha permitido explicar, de alguna manera, el porqué de la asociación de la proteína con el desencadenamiento de procesos inflamatorios y apoptóticos (20).

#### **2.4.2 PROTEÍNA S100B EN MEDICINA PERINATAL**

Debido a la disrupción de la barrera hematoencefálica posterior a eventos como la asfixia perinatal o la hemorragia intraventricular, es que múltiples grupos de investigación han propuesto y estudiado la cuantificación de la proteína S100B, en diferentes fluidos biológicos, como un biomarcador para la detección y determinación del daño cerebral ocurrido bajo este contexto. Si bien la liberación de esta proteína por parte de otros tejidos, como el muscular, nervioso o cardíaco, podría conducir a falsos positivos, se ha evidenciado que el aporte no es lo suficientemente alto en los neonatos y, por lo tanto, su identificación a nivel sérico se convierte en un biomarcador exclusivo del tejido nervioso en esta población. Adicionalmente, los efectos dependientes de concentración de la S100B, particularmente su potencial neurotóxico a niveles micromolares, asociado a la posibilidad de su cuantificación en sangre de cordón, han conducido a que se

proponga la utilización de esta proteína como un predictor temprano de desenlaces neurológicos severos (21). Las concentraciones proteicas pueden ser medidas a través de técnicas como LIAISON o ELISA, obteniendo resultados al cabo de 2 a 6 horas, respectivamente (22).

Qui Luo y colaboradores, por medio de una revisión sistemática de la literatura, describieron el valor pronóstico de la proteína S100B cuantificada a las 24 horas en sangre de cordón de neonatos con diagnóstico de asfixia perinatal. Los resultados de su investigación arrojaron una alta sensibilidad; sin embargo, un bajo valor predictivo positivo a las 24 horas. Lo anterior, probablemente relacionado con la vida media de la S100B (2 horas), con su momento pico de liberación entre 2 y 6 horas después de ocurrido el evento como consecuencia del aumento en la permeabilidad de la barrera hemato-encefálica; y con la regulación a la baja en la síntesis del RNA mensajero de la S100B a las 12 y 24 horas posterior de sucedida la privación de glucosa y oxígeno al tejido nervioso. Todas estas particularidades, junto con la estandarización de la técnica molecular de elección, han de ser tenidas en cuenta al momento de proponer cuantificaciones de S100B con fines diagnósticos (10).

Por otro lado, Thorngren-Jerneck y colaboradores, demostraron que los valores predictivos de S100B son incluso menos precisos en aquellos casos de asfixia perinatal leve, en donde el desenlace puede ser severo pero las manifestaciones clínicas tempranas al ser inespecíficas o ausentes, no permiten un diagnóstico adecuado y, como consecuencia de lo anterior, el biomarcador no es cuantificado. Estos pacientes que podrían haberse visto beneficiados de la instauración temprana de tratamientos y programas de seguimiento, solo son identificados años después,

cuando presentan problemas en el neurodesarrollo asociados con sus capacidades cognitivas y de aprendizaje (23). Los hallazgos descritos abren interesantes posibilidades de investigación alrededor del uso de la proteína S100B en escenarios de riesgo de asfixia perinatal incluso cuando las manifestaciones clínicas esperadas no son las observadas.

### **3. HIPÓTESIS**

#### **3.1 HIPÓTESIS NULA**

La medición de la proteína S100B sérica a las 12 y 48 horas después del nacimiento no es un biomarcador útil en el diagnóstico de pacientes con riesgo de asfixia perinatal.

#### **3.2 HIPÓTESIS ALTERNA**

La medición de la proteína S100B sérica a las 12 y 48 horas después del nacimiento es un biomarcador útil en el diagnóstico de pacientes con riesgo de asfixia perinatal.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar si la medición de la proteína S100B en suero de sangre periférica, a las 12 y 48 horas después del nacimiento, es un biomarcador útil en el diagnóstico de pacientes con riesgo de asfixia perinatal.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Cuantificar la concentración de la proteína S100B, por medio de técnica ELISA, a las 12 y 48 horas, en suero de sangre periférica de neonatos que hayan presentado riesgo de asfixia perinatal.
- Describir y caracterizar la población en estudio, incluyendo a las madres de los neonatos que haya presentado riesgo de asfixia perinatal, a partir de las variables clínicas y demográficas elegidas.
- Explorar posibles asociaciones entre la concentración sérica de la proteína S100B a las 12 y 48 horas y las variables clínicas y demográficas de la madre y el neonato con riesgo de asfixia perinatal.
- Describir el desarrollo neurológico de los neonatos que presentaron riesgo de asfixia perinatal y elevación de la proteína S100B a las 12 y 48 horas de ocurrido el evento.

## **5. METODOLOGÍA**

### **5.1 TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO**

Estudio descriptivo de corte transversal, de medidas repetidas, debido a que la medición en suero de la proteína S100B se realizó en dos momentos diferentes, 12 y 48 horas, a cada uno de los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión.

### **5.2 POBLACIÓN EN ESTUDIO**

Recién nacidos a término o pretérmino atendidos en el servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario Mayor – Méderi en Bogotá, Colombia, entre junio de 2017 y julio de 2018, que durante el parto presentaron riesgo de asfixia perinatal, de acuerdo con los criterios de inclusión definidos para tal fin.

#### **5.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Debe cumplirse al menos uno de los siguientes criterios:

- Acidosis metabólica pH < 7.0, base exceso mayor o igual a 12 en sangre arterial de cordón umbilical.
- Cambios abruptos en la frecuencia cardiaca fetal (por ejemplo, bradicardia fetal sostenida).
- Evento centinela intraparto.
- Apgar menor o igual a 3 más allá de los cinco minutos después del nacimiento.
- Otros signos de asfixia perinatal moderada.

## 5.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Trastornos metabólicos identificables.
- Malformaciones congénitas severas.
- Infecciones prenatales o intraparto.
- Enfermedades genéticas diagnosticadas antes o durante el parto.
- Orden de salida o traslado durante las primeras ocho horas posteriores al nacimiento.

## 5.3 DISEÑO MUESTRAL

Dada la baja prevalencia de la asfixia perinatal (1), se realizó un muestreo por conveniencia. Se trata de una técnica no probabilística en donde se incluyeron todos los pacientes que cumplieron con al menos uno de los criterios de inclusión durante la ventana de tiempo elegida por los investigadores (junio de 2017 – julio de 2018).

## 5.4 DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

### 5.4.1 DIAGRAMA DE VARIABLES

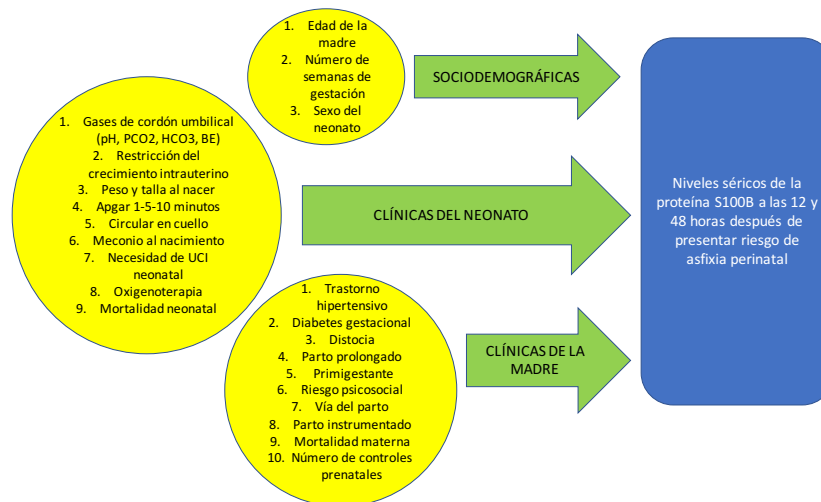


Gráfico 1. Diagrama de variables

## 5.4.2 TABLA DE VARIABLES

Tabla 1. Tabla de variables

NOMBRE	CLASIFICACIÓN	DEFINICIÓN	NATURALEZA	NIVEL DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDIDA
Asfisia perinatal	Dependiente	Cumplimiento de los criterios definidos por la ACOG	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Edad gestacional	Independiente	Número de semanas de gestación al momento del nacimiento	Cuantitativa	Razón	Número de semanas
Bajo peso al nacer	Independiente	Peso fetal por debajo del percentil 10	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Apgar1	Independiente	Puntaje Apgar al minuto 1	Cualitativa	Ordinal	0 - 3 = Severo 4 - 6= Moderado 7 - 9= Severa
Apgar5	Independiente	Puntaje Apgar al minuto 5	Cualitativa	Ordinal	0 - 3 = Severo 4 - 6= Moderado 7 - 9= Severa
Apgar10	Independiente	Puntaje Apgar al minuto 10	Cualitativa	Ordinal	0 - 3 = Severo 4 - 6= Moderado 7 - 9= Severa
Proteína S100B 12 horas	Dependiente	Niveles séricos de la proteína	Cuantitativa	Razón	u / L
Proteína S100B 48 horas	Dependiente	Niveles séricos de la proteína	Cuantitativa	Razón	u / L
Pre eclampsia	Independiente	Criterios diagnóstico de preclamsia en la madre	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Edad de la madre	Independiente	Años cumplidos	Cuantitativa	Razón	Años de vida
Diabetes gestacional	Independiente	Criterios diagnósticos para diabetes gestacional	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Controles prenatales	Independiente	Número de controles prenatales	Cuantitativa	Razón	Número de controles prenatales
Género	Independiente	Género del neonato	Cualitativa	Nominal	1 = Femenino 2 = Masculino

					3 = Indeterminado
Distocia	Independiente	Distocia durante el parto	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Prolongado	Independiente	Parto prolongado	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Primigestante	Independiente	Madre primigestante	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Alto Riesgo	Independiente	Embarazo de alto riesgo psicosocial	Cualitativa	Nominal	0 = No 1 = Sí
Vía	Independiente	Vía del parto	Cualitativa	Nominal	0 = Vaginal 1=Cesárea
Instrumentado	Independiente	Parto instrumentado	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Circular	Independiente	Circular de cordón umbilical	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
UCI Neonatal	Independiente	Hospitalización en UCI neonatal	Cualitativa	Ordinal	0 = No 1= Básico 2= Intermedio 3= Intensivo
Mortalidad	Independiente	Mortalidad neonatal	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
pH de cordón	Independiente	Nivel de pH en sangre de cordón al momento del nacimiento	Cuantitativa	Razón	NA
PCO2 de cordón	Independiente	Nivel de PCO2 en sangre de cordón al momento del nacimiento	Cuantitativa	Razón	mmHg
HCO3 de cordón	Independiente	Nivel de HCO3 en sangre de cordón al momento del nacimiento	Cuantitativa	Razón	mEq/L
Base exceso	Independiente	Base exceso en gases arteriales al momento del nacimiento	Cuantitativa	Intervalo	mEq/L
Peso	Independiente	Peso del neonato al nacimiento	Cuantitativa	Razón	gramos
Talla	Independiente	Talla del neonato al nacimiento	Cuantitativa	Razón	centímetro
Oxigenoterapia	Independiente	Indicación de oxigenoterapia en el neonato	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí
Meconio	Independiente	Meconio al momento del nacimiento	Cualitativa	Nominal	0 = No 1= Sí

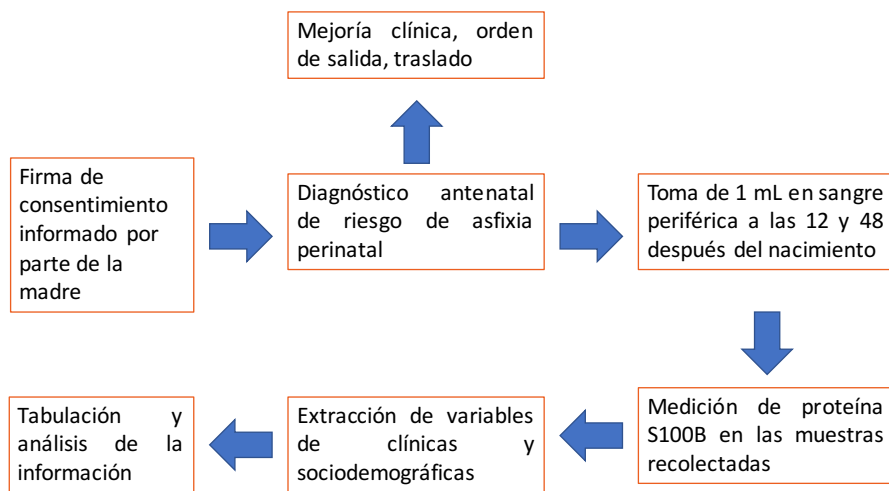
## 5.5 TÉCNICAS DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

### 5.5.1 FUENTES DE INFORMACIÓN

La información de las variables clínicas y sociodemográficas fue tomada de las historias clínicas de los neonatos y las madres que cumplieron con alguno de los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión (fuente secundaria).

El acceso al sistema de información contó con previa autorización del Comité de Investigaciones de Méderi.

Para la cuantificación sérica de la proteína S100B se tomó un (1) mililitro de sangre periférica, a las 12 y 48 horas después del nacimiento, de aquellos neonatos que presentaron riesgo de asfixia perinatal de acuerdo con los criterios definidos, previa firma del consentimiento informado por parte de la madre.



**Gráfico 2. Procedimiento de recolección de muestras y datos**

### **5.5.2 INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN**

Se tabuló la información clínica y sociodemográfica de la madre y el recién nacido en una base de datos construida en Excel, la cual contó con la debida codificación de las variables seleccionadas. En esta misma se consignó la concentración de la proteína sérica S100B a las 12 y 48 horas, así como el delta de ambas medidas.

### **5.5.3 PROCESO DE OBTENCIÓN DE LA INFORMACIÓN**

Los investigadores revisaron sistemáticamente las historias clínicas de los neonatos que presentaron riesgo de asfixia perinatal, de acuerdo con los criterios definidos por los investigadores, entre junio de 2017 y julio de 2018 en el Hospital Universitario Mayor – Méderi. Se realizó doble chequeo de la información extraída, con el objetivo de minimizar errores en el proceso de consolidación.

La determinación cuantitativa de la proteína S100B se realizó por prueba de inmunoensayo ELISA, kit comercial *Biovendor*, midiendo la proteína por triplicado en las muestras de cada paciente a las 12 y 48 horas después del nacimiento, en el laboratorio de Bioquímica de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad del Rosario.

## 5.6 CONTROL DE ERRORES Y SESGOS

Tabla 2. Errores, sesgos y controles

TIPO	DESCRIPCIÓN DE LA POSIBILIDAD DE OCURRENCIA	FORMA DE CONTROL
Selección	Teniendo en cuenta los criterios de selección definidos, se pudo dejar por fuera aquellos pacientes que hubiesen presentado riesgo de asfixia perinatal pero las manifestaciones clínicas o paraclínicas se encontraron fuera de los parámetros establecido por los investigadores. Por otro lado, se pudieron incluir pacientes que no cumplieron con al menos uno de los criterios de inclusión o que, por el contrario, cumplieron con alguno de los de exclusión.	Se entrenó al personal en salud que hace parte del servicio de Neonatología y Ginecología y Obstetricia del Hospital Universitario Mayor, con el objetivo de reforzar los criterios de inclusión y exclusión y así evitar la selección de pacientes que no cumplieran con las características mencionadas.
Información	Mal embalaje, traslado y procesamiento de las muestras de sangre hacia y en el laboratorio.	Se realizó estandarización y divulgación del protocolo de recolección y traslado de muestras al interior del Hospital Universitario Mayor. Se corrieron muestras control siguiendo el protocolo definido por el laboratorio. De esta manera se logró estandarizar el kit y no se incurrió en resultados que pudieron presentar falsos positivos o falsos negativos.

## 5.7 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Se realizó un análisis univariado de las variables sociodemográficas y clínicas del neonato y la madre. La descripción de las variables cualitativas nominales se hizo por medio de porcentajes y frecuencias absolutas, mientras que la descripción de las cuantitativas se hizo a través de promedios y medidas de dispersión. En algunos casos se utilizaron gráficos de cajas y bigotes para la presentación de los resultados.

Se implementó la prueba Wilcoxon para determinar la existencia de diferencia estadísticamente significativa entre las dos mediciones de la concentración sérica de la proteína S100B a las 12 y 48 horas.

Por último, se realizó un análisis bivariado entre la medición de la proteína en ambos momentos y algunas de las variables clínicas y sociodemográficas, utilizando las pruebas estadísticas de correlación de Rho Spearman y la prueba de independencia de Chi Cuadrado.

## **6. CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El presente trabajo de investigación se encuentra en la categoría de “riesgo mínimo” de acuerdo a lo estipulado en la Resolución 8430 de 1993 y cuenta con la aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Universidad del Rosario (Acta 313 del 05 de mayo de 2016).

Se obtuvo consentimiento informado de cada una de las participantes, quienes autorizaron la toma de muestras de sangre periférica en sus hijos a las 12 y 48 horas después del parto, así como el acceso y uso de sus datos personales y clínicos con fines investigativos.

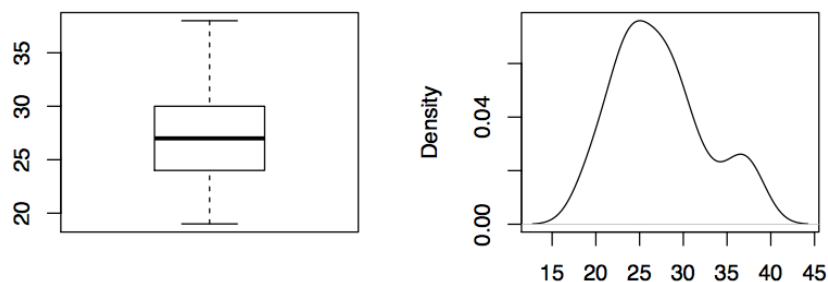
El actual estudio respeta la normativa internacional de la Declaración de Helsinki y los cuatro principios de bioética: autonomía, justicia, beneficencia y no maleficencia.

## 7. RESULTADOS

Una vez aplicados los criterios de inclusión durante el periodo de tiempo establecido, se incluyeron 23 pacientes en el desarrollo del presente trabajo de investigación. A todos estos se les extrajeron las variables clínicas y sociodemográficas y, de igual manera, se les tomó muestras de sangre para la medición de la proteína S100B a las 12 y 48 horas después del nacimiento.

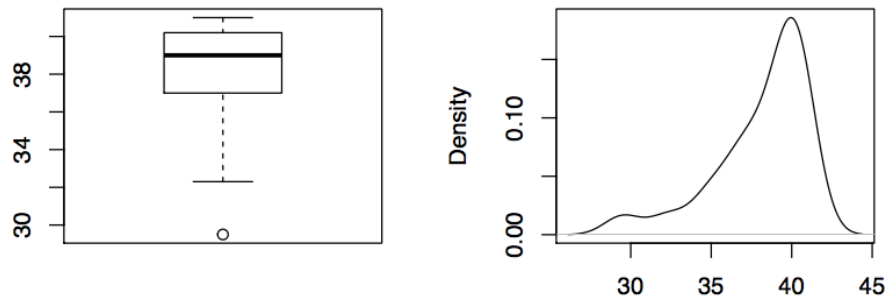
Solo 22 de las observaciones fueron analizadas dado que uno de los participantes contó con un dato censurado, específicamente en el resultado de la cuantificación de la proteína a las 12 horas. Dado que la medida sobrepasó el límite superior de registro detectable, se decidió eliminar dicha observación para afianzar la potencia de los resultados y evitar así sesgos de estimación.

La media de la edad materna de los pacientes, fue de 27,27 años, con un mínimo de 19 y un máximo de 38 años (Gráfico 3). Los datos presentaron una distribución asimétrica positiva, es decir que la mayor cantidad de estos se encontraban más cercanos al límite inferior.



**Gráfico 3. Gráfico de cajas y bigotes y distribución de la variable edad materna en años**

La media de edad gestacional y peso al nacer fue de 38,08 semanas (Gráfico 4). Adicionalmente, el promedio del pH de cordón estuvo por encima de 7.0, valor que se encuentra en rango de normalidad de acuerdo a los criterios de la ACOG para AP. Ahora bien, tres de los pacientes contaron con un registro de pH en gases de cordón de 6.9, y uno de los pacientes de 6.0. Las tres variables mencionadas, presentaron distribuciones no normales, lo cual puede ser secundario al tamaño de la muestra analizada.



**Gráfico 4. Gráfico de cajas y bigotes y distribución de la variable edad gestacional en semanas**

La media de la medición de la proteína a las 12 horas fue de 23,85 y a las 48 horas de 16,11. Es importante resaltar que en 14 de las 22 observaciones ocurrió una diferencia de resultado positivo al comparar los dos momentos. Esto significa que en más del 50% de los pacientes hubo una mayor elevación de la proteína a las 12 horas.

No se contó con registro de la presión de CO<sub>2</sub> (PCO<sub>2</sub>) en gases de cordón en tres las observaciones, por lo cual los datos faltantes se trataron mediante el método de imputación de regresión. La ausencia de información en una de las observaciones

para las variables pH, bicarbonato (HCO<sub>3</sub>) y base exceso (BE), se ajustó de la misma manera.

**Tabla 3. Resultado al análisis de las variables continuas**

VARIABLE	MÍNIMO	Q1	MEDIANA	PROMEDIO	DE	CV	Q3	MÁXIMO
Edad gestacional (semanas)	29	37,05	39	38,08	3	7,87	40,18	41
Edad materna (años)	19	24	27	27,27	5,28	19,34	29,75	38
Peso (grs)	122	2447,5	2950	2819,09	550,89	19,54	3170	3550
Talla (cm)	37	46,62	49	47,82	3,25	6,8	49,75	52
pH de cordón	6,9	6,97	7,16	7,14	0,16	2,29	7,28	7,35
PCO <sub>2</sub> de cordón	29,1	37,7	52,85	51,76	15,54	30,03	65,03	83,2
HCO <sub>3</sub> de cordón	10,3	15,33	16,72	17,03	4,04	23,74	19,4	29
Base exceso	5	7,85	11,5	12,99	5,78	44,48	17,47	22,9
S100B 12 horas	2,67	13,53	17,14	23,85	22,96	96,26	20,98	88,11
S100B 48 horas	3,07	9,69	12,91	16,11	10,42	64,7	20,52	42,86

DE = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación

En el grupo de variables categóricas nominales, no hubo datos faltantes. El 68,18% (n=15) de los neonatos presentaron bajo peso al nacer, condición que es considerada factor de riesgo para asfixia perinatal. Si bien el 13,63% (n=3) y el 72,72% (n=16) de los pacientes tuvieron un Apgar severo y moderado al primero minuto, respectivamente, ninguno de los participantes registró severidad a los cinco y diez minutos.

**Tabla 4. Distribución de frecuencia absoluta de los pacientes de acuerdo con el puntaje Apgar al minuto 1, 5 y 10 posterior al nacimiento**

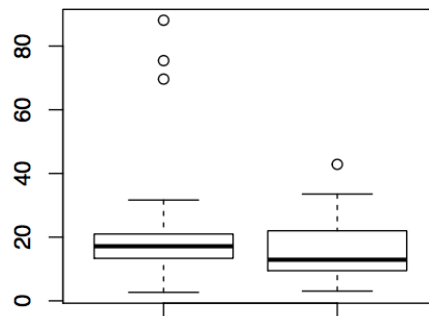
	Severo	Moderado	Bueno
Apgar 1	13,6% (3)	72,72% (16)	13,6% (3)
Apgar 5	0	22,72% (5)	77,27% (17)
Apgar 10	0	0	100% (22)

Vale la pena resaltar que el 90,90% (n=20) de los neonatos requirieron hospitalización inmediata posterior al nacimiento. El 68,18% (n=15) necesitó ventilación mecánica invasiva motivo por el cual fueron ingresados a la Unidad de Cuidado Intensivo Neonatal; el 18,18% (n=4) fue manejando en la Unidad de Cuidado Intermedio y el 4,54% (n=1) en la de Cuidado Básico.

**Tabla 5. Resultado de variables categóricas nominales**

VARIABLE	CATEGORÍAS	
	Masculino	Femenino
Género	14 (63,63%)	8 (36,37%)
Bajo peso al nacer	Sí	No
	15 (68,19%)	7 (31,81%)
Trastorno hipertensivo del embarazo	1 (4,54%)	21(95,45%)
Diabetes gestacional	2 (9,09%)	20 (90,9%)
Distocia	2 (9,09%)	20 (90,9%)
Parto prolongado	4 (18,18%)	18 (81,81%)
Primigestante	12 (54,54%)	10 (45,45%)
Alto riesgo psicosocial	4 (18,18%)	18 (81,81%)
Parto instrumentado	2 (9,09%)	20 (90,9%)
Circular de cordón	6 (27,27%)	16 (72,72%)
Meconio al nacimiento	6 (27,27%)	16 (72,72%)
Oxigenoterapia	19 (86,36%)	3 (13,63%)
Vía del parto	Vaginal	Cesárea
	9 (40,90%)	13 (59,09%)

Se realizó un test de Wilcoxon para determinar la existencia de diferencia estadística entre los resultados de la cuantificación a las 12 y 48 horas. Según la muestra obtenida, con un 95% de confianza y un valor de  $p = 0,1941$ , se concluyó que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de proteína S100B registrados en los dos momentos de elección.

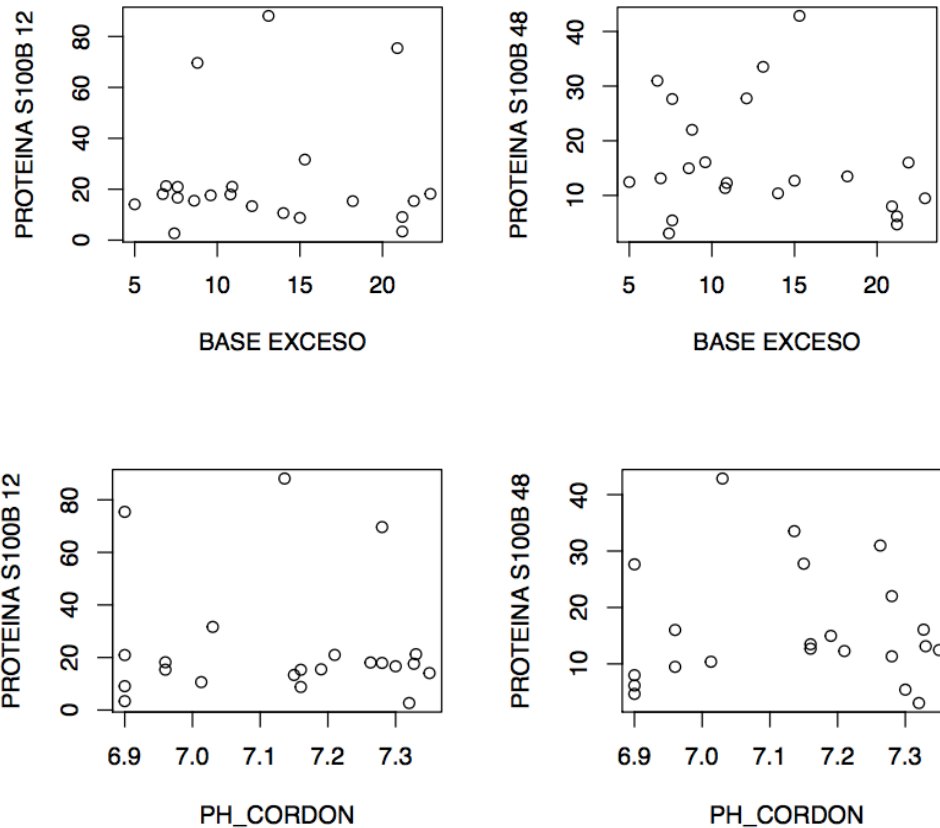


**Gráfico 5. Gráfico de cajas y bigotes para las variables dependientes medición de la proteína S100B a las 12 y 48 horas**

Para el análisis de correlaciones se incluyeron las siguientes variables independientes: pH de cordón, base exceso, bajo peso al nacer, número de controles prenatales, oxigenoterapia, Apgar al minuto 10. Con el objetivo de verificar los resultados obtenidos por medio de la aplicación del Test de Wilcoxon, se buscaron asociaciones entre las variables mencionadas y ambas variables respuesta (proteína S100B a las 12 y 48 horas).

Dado que el resultado de la prueba de normalidad Shapiro-Wilks arrojó que las variables respuesta contaban con una distribución no normal ( $p < 0,05$ ), se utilizó el test no paramétrico Rho de Spearman para medir asociación entre éstas y las variables dependientes de carácter numérico continuo elegidas: pH de cordón y

base exceso. Una vez aplicada la prueba estadística no se evidenció correlación entre las variables en mención (Gráfico 6).



**Gráfico 6. Diagrama de correlación entre las variables independientes y la base exceso y el pH de cordón**

Para la exploración de posibles correlaciones entre la proteína y las variables categóricas, y con miras a realizar una prueba de Chi cuadrado de independencia, se decidió categorizar los niveles de la proteína, según los resultados de la muestra y sus respectivos cuartiles. Por lo anterior, del dato mínimo al primer cuartil se denominó “nivel bajo”; del primer cuartil al tercer cuartil, se denominó “nivel medio” (área típica de la muestra) y del tercer cuartil en adelante se denominó “nivel alto”. Asimismo, se realizó una categorización de la variable “número de controles

prenatales”, considerando como buen control prenatal aquellas observaciones que contaron con 5 o más durante el periodo de gestación.

Solo se evidenció relación estadística entre la variable “género del neonato” y la medición de la proteína S100B a las 48 horas. No hubo relación alguna entre las otras variables analizadas.

## 8. DISCUSIÓN

Este trabajo de grado se fundamentó en la exploración del uso de la proteína S100B a nivel sérico como un biomarcador diagnóstico para la AP y su asociación con diferentes variables clínicas. Para lo anterior, se realizó la cuantificación de esta molécula en un grupo de 23 pacientes que presentaron riesgo de AP de acuerdo con los criterios establecidos por la ACOG para tal fin.

A pesar de que la AP es una condición con importantes tasas de morbimortalidad en población pediátrica a nivel mundial, y de manera especial en los países en vía de desarrollo, actualmente no se cuenta con herramientas diagnósticas de uso temprano que permitan la identificación oportuna de pacientes en riesgo de presentar complicaciones y desenlaces fatales asociados al evento asfíctico (2). Aunque varios grupos de investigación han candidateado el uso con fines diagnósticos de diversas moléculas biológicas, la mayoría de estas, involucradas en las rutas metabólicas de los tejidos que se comprometen durante la AP, hasta el momento no se ha logrado un uso regular y estandarizado de las mismas (12).

Es importante señalar que el presente trabajo de investigación resulta innovador pues al incluir pacientes con riesgo de asfixia perinatal, utilizando parámetros paraclínicos previos al parto, se identificaron neonatos que, bajo los criterios diagnósticos clínicos “clásicos” actualmente establecidos, no hubiesen sido captados, llevando a que perdieran la posibilidad de recibir un seguimiento adecuado acompañado de terapias y tratamientos para el mejoramiento significativo de su desarrollo neurológico.

En ese sentido, y de acuerdo con los criterios de la ACOG para diagnóstico de AP, era esperable que, ante la aparente ausencia de supresión en el flujo de oxígeno, no se hubiese presentado daño neurológico alguno (3); sin embargo, la elevación que se registró en la proteína S100B a nivel sérico, sugiere que, contrario a lo esperado, los neonatos si presentaron AP aun cuando el valor de Apgar después del minuto cinco se encontraba dentro de las categorías de “moderado” y “bueno” y el pH estaba por encima de 7.0. Lo anterior, sugiere que la proteína S100B podría funcionar como un biomarcador temprano más sensible y con mejor objetividad para la detección de AP, al ser comparada con herramientas clínicas como el ya descrito Apgar al minuto 1, 5 y 10 después del nacimiento.

Por otra parte, si bien el test de Wilcoxon no arrojó diferencia estadísticamente significativa, este resultado no deja de ser valioso ya que a través del mismo se puede concluir que, independientemente del momento en cual se realice la cuantificación sérica, 12 o 48 horas, el registro obtenido podrá ser de utilidad en la identificación objetiva de daño neurológico posterior a un evento de asfixia.

Es importante resaltar que, de acuerdo con los resultados agrupados, el promedio de cuantificación a las 12 horas fue ligeramente superior al de las 48 horas. Esto podría estar explicado por la vida media de esta proteína (2 horas), para la cual se han descrito picos de liberación hacia las 6 horas con una disminución y depuración hacia las 72 horas después de ocurrida la noxa (3). En relación con lo expuesto, se propone que en el marco de futuras investigaciones alrededor del uso de la S100B con utilidad diagnóstica para la AP, las horas previas al pico deben ser consideradas como uno de los momentos más adecuados para la toma de muestras.

Ahora bien, la eliminación de una de las observaciones para evitar sesgos de estimación al encontrarse por encima del límite superior detectable, pudo modificar las medidas de dispersión para ambos grupos.

El hecho de que 19 de los pacientes hayan requerido como parte de su tratamiento la administración de oxígeno, es una conducta clínica de gran relevancia en el marco de esta investigación. Dado que se ha demostrado que este medicamento, cuando se usa de manera oportuna y a dosis adecuadas, detiene de manera significativa el progreso de la lesión neuronal ya instaurada, su implementación en este contexto, pudo modificar el comportamiento metabólico hacia la producción de mayor cantidad de energía por vías aeróbicas. Lo expuesto, pudo disminuir el daño celular y la mayor liberación de la proteína, alterando la posibilidad de detectar la S100B a nivel sérico (16). En este sentido, la molécula también podría resultar de gran utilidad para evaluar los procesos de recuperación de los pacientes que se encuentran recibiendo algún tipo de tratamiento.

Como evidencia de lo planteado, Roka y colaboradores, en uno de sus trabajos de investigación, evaluaron los beneficios de la hipotermia controlada en pacientes con diagnóstico de AP, comparando el comportamiento metabólico de la S100B entre participantes que recibieron este tipo de tratamiento y aquellos que se preservaron bajo condiciones normotérmicas; concluyendo que la disminución de la proteína fue más evidente en el primer grupo en mención (8).

Por último, aunque la única asociación estadística evidenciada se dio entre las variables “proteína S100B a las 48 horas” y “género de los neonatos”, es posible que de aumentarse el tamaño de muestra se logre identificar correlación entre algunas de las otras variables seleccionadas.

En ese sentido, es que la principal limitación de esta investigación gira en torno al bajo número de pacientes incluidos, así como a la ausencia de un grupo control. Ahora bien, es importante resaltar que la decisión de considerar a cada paciente como su propio “control” surgió tras resultados de investigaciones previas, en donde al comparar los valores de este biomarcador entre neonatos con riesgo de asfixia y neonatos sin riesgo, no hubo diferencia alguna (trabajo en vías de publicación). Por lo anterior, los resultados obtenidos son de gran valor pues abren nuevas posibilidades de investigación alrededor del tema en estudio. Este trabajo de grado permitió por consiguiente concluir una primera etapa hacia otros objetivos.

## **9. CONCLUSIONES**

Los resultados obtenidos por medio de la presente investigación sugieren que los niveles séricos de la proteína S100B pueden ser utilizados como un biomarcador para la identificación temprana de AP y la evaluación de los efectos terapéuticos en el marco de estudios alrededor de tratamientos con fines de neuroprotección; sin embargo, para confirmar lo anterior, y con el ánimo de obtener resultados estadísticos con significancia más robusta, se requieren de estudios adicionales con mayores tamaños muestrales que contemplen a su vez, la inclusión de un grupo control, así como la cuantificación de la proteína en diferentes momentos a partir del nacimiento y hasta las 72 horas de vida posnatal.

## REFERENCIAS

1. Uribe AG. Ministerio de Salud y Protección Social. :275.
2. Organization WH. Neonatal and perinatal mortality: country, regional and global estimates [Internet]. World Health Organization; 2006 [citado el 4 de junio de 2020]. Disponible en: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43444>
3. Douglas-Escobar M, Weiss MD. Hypoxic-ischemic encephalopathy: a review for the clinician. *JAMA Pediatr.* abril de 2015;169(4):397–403.
4. Ferriero DM. Neonatal brain injury. *N Engl J Med.* el 4 de noviembre de 2004;351(19):1985–95.
5. van Laerhoven H, de Haan TR, Offringa M, Post B, van der Lee JH. Prognostic tests in term neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy: a systematic review. *Pediatrics.* enero de 2013;131(1):88–98.
6. Tskitishvili E, Sharentuya N, Temma-Asano K, Mimura K, Kinugasa-Taniguchi Y, Kanagawa T, et al. Oxidative stress-induced S100B protein from placenta and amnion affects soluble Endoglin release from endothelial cells. *Mol Hum Reprod.* marzo de 2010;16(3):188–99.
7. Michetti F, Corvino V, Geloso MC, Lattanzi W, Bernardini C, Serpero L, et al. The S100B protein in biological fluids: more than a lifelong biomarker of brain distress. *J Neurochem.* marzo de 2012;120(5):644–59.
8. Roka A, Kelen D, Halasz J, Beko G, Azzopardi D, Szabo M. Serum S100B and neuron-specific enolase levels in normothermic and hypothermic infants after perinatal asphyxia. *Acta Paediatr Oslo Nor 1992.* marzo de 2012;101(3):319–23.
9. Martins RO, Rotta NT, Portela LV, Souza DO. S100B protein related neonatal hypoxia. *Arq Neuropsiquiatr.* marzo de 2006;64(1):24–9.
10. Luo Q, Pin T, Dai L, Chen G, Chen Y, Tian F, et al. The Role of S100B Protein at 24 Hours of Postnatal Age as Early Indicator of Brain Damage and Prognostic Parameter of Perinatal Asphyxia. *Glob Pediatr Health.* 2019;6:2333794X19833729.
11. Hagberg H, David Edwards A, Groenendaal F. Perinatal brain damage: The term infant. *Neurobiol Dis.* 2016;92(Pt A):102–12.
12. Fattuoni C, Palmas F, Noto A, Fanos V, Barberini L. Perinatal Asphyxia: A Review from a Metabolomics Perspective. *Molecules.* el 17 de abril de 2015;20:7000-7016;
13. Beharier O, Kahn J, Shusterman E, Sheiner E. S100B - a potential biomarker for early detection of neonatal brain damage following asphyxia. *J Matern-Fetal*

Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet. septiembre de 2012;25(9):1523–8.

14. Harteman JC, Nikkels PGJ, Benders MJNL, Kwee A, Groenendaal F, de Vries LS. Placental pathology in full-term infants with hypoxic-ischemic neonatal encephalopathy and association with magnetic resonance imaging pattern of brain injury. *J Pediatr.* octubre de 2013;163(4):968-995.e2.

15. Bennet L, Roelfsema V, Pathipati P, Quaedackers JS, Gunn AJ. Relationship between evolving epileptiform activity and delayed loss of mitochondrial activity after asphyxia measured by near-infrared spectroscopy in preterm fetal sheep. *J Physiol.* el 1 de abril de 2006;572(Pt 1):141–54.

16. Bennet L, Tan S, Van den Heuvel L, Derrick M, Groenendaal F, van Bel F, et al. Cell therapy for neonatal hypoxia-ischemia and cerebral palsy. *Ann Neurol.* mayo de 2012;71(5):589–600.

17. Volpe JJ. Neonatal encephalopathy: an inadequate term for hypoxic-ischemic encephalopathy. *Ann Neurol.* agosto de 2012;72(2):156–66.

18. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol.* octubre de 1976;33(10):696–705.

19. Bernardini C, Lattanzi W, Businaro R, Leone S, Corvino V, Sorci G, et al. Transcriptional effects of S100B on neuroblastoma cells: perturbation of cholesterol homeostasis and interference on the cell cycle. *Gene Expr.* 2010;14(6):345–59.

20. Riuzzi F, Sorci G, Donato R. S100B protein regulates myoblast proliferation and differentiation by activating FGFR1 in a bFGF-dependent manner. *J Cell Sci.* el 15 de julio de 2011;124(Pt 14):2389–400.

21. Pham N, Fazio V, Cucullo L, Teng Q, Biberthaler P, Bazarian JJ, et al. Correction: Extracranial Sources of S100B Do Not Affect Serum Levels. *PLoS ONE* [Internet]. el 29 de octubre de 2010 [citado el 4 de junio de 2020];5(10). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2976855/>

22. Gazzolo D, Abella R, Marinoni E, di Iorio R, Li Volti G, Galvano F, et al. New markers of neonatal neurology. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2009;22 Suppl 3:57–61.

23. Thorngren-Jerneck K, Alling C, Herbst A, Amer-Wahlin I, Marsal K. S100 protein in serum as a prognostic marker for cerebral injury in term newborn infants with hypoxic ischemic encephalopathy. *Pediatr Res.* marzo de 2004;55(3):406–12.