

TESIS DOCTORAL

"GRUPOS DE DIFERENCIACIÓN LINFOCITARIA EN NEONATOS DE BAJO PESO
PARA LA EDAD DE GESTACION (BPEG)"



El **Profesor Ricardo Closa Monasterolo**, Profesor titular de Pediatría de la Facultad de Medicina de la Universidad Rovira i Virgili,

CERTIFICA:

Que el doctorando **José Moralejo Beneitez**, licenciado en Medicina y Cirugía, ha trabajado bajo su dirección en la memoria titulada: “Grupos de diferenciación linfocitaria en neonatos de bajo peso para la edad de gestación (BPEG)”, y que, al considerarla concluida, autoriza su presentación para que sea juzgada por el tribunal correspondiente, para obtener el grado de doctor.

Prof. Ricardo Closa Monasterolo

Lo que certifica en Tarragona en Octubre de 2008.

Dedicatorias/agradecimientos/deudas

A Ricardo Closa, que rescato este trabajo del fondo del baúl, polvoriento y casi olvidado, se que en ocasiones tuvo que hacer esfuerzos para empujarme a seguir.

A Manel Jariod por su paciencia frente a la ignorancia, por su tiempo, aprendí que los números pueden hablar.

Al resto de mis compañeros de trabajo que de muy diversas maneras me ayudaron, aun sin saberlo, y en ocasiones tuvieron que tolerarme.

A la Pediatría, la forma más bonita de ser médico.

Fundamentalmente a los neonatos, a ellos muchos de nosotros le dedicamos gran parte de la vida, afortunadamente.

A mi gente

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 SISTEMA INMUNITARIO	6
1.1.1 Inmunidad innata, inespecífica	6
1.1.2 Inmunidad adaptativa, específica	8
1. 2 DESARROLLO DE LOS MECANISMOS DE DEFENSA	12
1.2.1 Órganos primarios o centrales	13
1.2.1.1 médula ósea	13
1.2.1.2 timo	14
1.2.2 Órganos secundarios	16
1.3. CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNITARIO	17
1.3.1. Linfocitos	17
1.3.1.1 linfocitos T	17
1.3.1.2 linfocitos B	19
1.3.1.3 células NK	20
1.3.1.4 cambios madurativos de los linfocitos B y T	22
1.4 NEONATOS DE BAJO PESO PARA LA EDAD GESTACIONAL	25
1.4.1 Concepto	25
1.4.2 Frecuencia	26
1.4.3 Consideraciones epidemiológicas	26
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	33
3. MATERIAL Y MÉTODO	34
3.1 Población objeto de estudio	34
3.1.1 criterios de inclusión	34
3.1.2 criterios de exclusión	34

3.2 Citometría de flujo	36
3.3 Protocolo de estudio	36
3.4 Variables del estudio	37
3.4.1 variables primarias/originales	37
3.4.2 variables calculadas	38
3.5 Análisis estadístico	38
4. RESULTADOS	40
5. DISCUSIÓN	79
6. CONCLUSIONES	87
7. BIBLIOGRAFÍA	88

1. INTRODUCCIÓN

La inmunología, ciencia que estudia el sistema inmune, es una ciencia muy joven y en plena evolución.

La cronología del conocimiento inmunológico comienza el año 1.022 a de C. con un escrito de Jen Tsung de China, es el primer dato histórico sobre la utilización de material desecado de vesículas infectadas con viruela que, inoculadas en individuos sanos, potenciaban en los mismos inmunidad a la enfermedad. Esta técnica fue denominada posteriormente variolización. Entre los años 1.760 a 1.780 se produjeron los primeros casos de protección frente a la viruela tras la inoculación de este virus. Fue en 1.796, con el experimento definitivo de Edwar Jenner sobre el joven James Phipps, al que inoculándole virus de la viruela de vaca libraron de contraer la enfermedad, lo que marca el inicio de la aplicación clínica de la inmunología.

Louis Pasteur, en 1.880, descubre la atenuación bacteriana y la usa para lograr inmunidad frente al carbunco y la rabia. Es él quien crea y difunde el término "vacunación".

En 1.882, Ellie Metchnikov, enuncia la "Teoría de la Inmunidad Celular". Tras estudiar fenómenos de englobamiento de partículas extrañas por los leucocitos de conejo y de humanos, informó que existían fenómenos de eliminación de agentes patógenos por medio de "células devoradoras" (fagocitos), reconociendo el significado de la fagocitosis en los tejidos animales. El primer uso de la inmunización pasiva es reconocido por algunos en la Navidad de 1891, en que se describe la inyección de antitoxina difterica en un joven de Berlín. La inmunización pasiva está basada en un trabajo de Emil Behring y Shibasabura Kitasato, del Robert Koch's Hygiene Institute de Berlín, que el 4 de Diciembre de 1.890 publicaron un artículo en el cual comunicaban que el suero de un animal activamente inmunizado frente a la difteria neutraliza una dosis fatal de esta toxina en otro animal (1).

En 1.956, Glick evalúa la respuesta inmune de la bolsa de Fabricio y en 1.960 Good y Miller, definen el papel del timo en la respuesta inmune. Milstein y Köhler en 1975 descubren los anticuerpos monoclonales (2). El desarrollo de los anticuerpos monoclonales, y el amplio uso en la identificación de diferentes subpoblaciones linfocitarias en personas sanas y en pacientes afectados por inmunodeficiencias, enfermedades autoinmunes, linfoproliferativas, infecciosas, cáncer etc. han hecho que el análisis de las subpoblaciones linfocitarias sea usado en la investigación, el laboratorio de inmunología clínica y en el diagnóstico clínico, como una pieza clave.

Los conocimientos sobre el sistema inmunitario han progresado mucho, conocemos su utilidad y gran parte de sus mecanismos, el porqué y cómo de las respuestas de protección frente al germen inoculado.

Nuestro entorno desde el punto de vista sanitario es agresivo, con gran número de agentes infecciosos potenciales, de diversas formas, tamaños, composición y caracteres agresivos (*vermes* - tenias, dracúnculus, esquistosomas, filarias; *protozoos* – amebas, leishmanias, tripanosomas, plasmodios; *hongos* – aspergillus, candida; *bacterias* - micobacterias, estafilococos, micoplasmas, rickettsias, clamidias; virus – pox, influenza, polio). Para evitar ser sus santuarios hemos desarrollado un conjunto de mecanismos de defensa. Estos mecanismos tratan de establecer un estado de inmunidad contra la infección (del latín *immunitas*, libre de), que es la base de la Inmunología (3). Todos los organismos pluricelulares poseen algún sistema de defensa, por elemental que sea, en virtud del cual distinguen los agentes patógenos foráneos como algo ajeno y los elimina.

Los vertebrados superiores han perfeccionado sus defensas y desarrollado un sistema inmunitario que discrimina entre diferentes patógenos, ante cada uno de los cuales responde de manera selectiva. Merced a tal especificidad, el sistema inmunitario se adapta rápidamente a los patógenos que con mayor frecuencia se encuentran en su propio entorno.

En términos moleculares, la vigilancia del sistema inmunitario de los vertebrados se centra en la búsqueda de antígenos, moléculas diana inmunológica, que indican la presencia de un invasor. Los antígenos no son meros fragmentos del patógeno. A menudo, constituyen moléculas construidas por el hospedador a partir de trozos de proteínas del agente patógeno y de ciertas proteínas celulares, las moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC). El procesado y ensamblaje de los antígenos encierran la clave de la flexibilidad, la especificidad y la precisión de todas las respuestas inmunitarias.

Para conseguir la especificidad de las respuestas, el sistema inmunitario emplea una población copiosa de linfocitos, los cuales poseen receptores de superficie que se unen con gran afinidad a los antígenos. Cada linfocito exhibe receptores cuya estructura difiere algo de la estructura expresada por los demás, cada linfocito muestra una especificidad precisa para un tipo de antígeno. Con semejante arsenal defensivo el sistema inmunitario está listo para responder, con ajustada especificidad, ante casi cualquier antígeno foráneo que halle en su camino.

El sistema inmunitario adapta la respuesta a la naturaleza del patógeno y a su estrategia invasora. Bacterias y macroparásitos originan infecciones en los espacios extracelulares del torrente sanguíneo o la luz intestinal. Para controlar estos organismos, el sistema inmunitario despliega receptores antigénicos solubles: los anticuerpos, producidos por los linfocitos B. Los anticuerpos, enlazados directamente al parásito, crean un blanco que habrán de abatir otras moléculas y células del sistema inmunitario.

Otros patógenos como los virus, algunas bacterias y protozoos parásitos, establecen sus infecciones en el interior celular, lejos del alcance de los anticuerpos. Para destruirlos entra en acción otro cuerpo de ejército del sistema inmunitario de defensa.

Las células del huésped portan en su superficie moléculas del MHC. En las células infectadas, estas moléculas del MHC se engarzan en péptidos pequeños procedentes del parásito y los exhiben.

Los complejos constituidos por péptidos parasitarios y moléculas MHC del parásito forman los antígenos que habrán de ser reconocidos por receptores antigénicos sobre linfocitos T citotóxicos (asesinos). Por esa vía los linfocitos T identifican y destruyen selectivamente células infectadas, sin atacar a las sanas.

Los complejos MHC-péptido intervienen también en la regulación de la respuesta inmunitaria. Algunas células especializadas, como los macrófagos, se mueven por todo el organismo, ingiriendo los materiales extracelulares que encuentran a su paso, los degradan en péptidos y presentan éstos constituidos en antígenos. Tales leucocitos, presentadores de antígenos, viajan desde el punto de infección hasta los ganglios linfáticos; aquí reclutan linfocitos para la respuesta inmunitaria. Por tanto, las células presentadoras de antígenos vienen a ser los mensajeros llegados de la línea de fuego. Cuando los linfocitos T coadyuvantes ("helper") descubren un complejo MHC-péptido sobre tales células presentadoras de antígenos, segregan linfocinas, moléculas que promueven la diferenciación de las células del sistema inmunitario (4,5).

Así pues, la defensa del organismo frente a los agentes infecciosos está asegurada gracias al sistema inmunitario, una combinación de barreras físicas, células, compuestos humorales, proteicos y liberación de factores y moléculas segregados por las propias células que sirven también como protección frente a las enfermedades autoinmunitarias y las neoplasias.

1.1 SISTEMA INMUNITARIO

El sistema inmunitario del individuo, que defiende a este de la agresión externa mediada por antígenos, está dividido desde el punto de vista funcional en dos clases: innata y adaptativa.

1.1.1 inmunidad innata, inespecífica.

Natural o no adaptativa, la más primitiva en la escala filogenética, esta formada por las barreras epiteliales, elementos celulares fagocíticos (monocitos, macrófagos y leucocitos polinucleares) y por células agresoras naturales (NK); así como por factores humorales bactericidas o bacteriostáticos como la lisozima, la proteína C reactiva, el complemento y ciertos tipos de interferon. Además, de los poco conocidos factores constitucionales que inducen susceptibilidad innata en una especie y, tornan a otra resistente a ciertas infecciones. Hay varios sistemas antimicrobianos inespecíficos que son innatos, que no son afectados por el contacto previo con el agente infeccioso, por tanto no mejoran con la exposición repetida a la infección. Esta inmunidad esta siempre presente y dispuesta para actuar, no necesita tiempo de latencia entre el estímulo y la acción. Cuenta con mecanismos que le permiten discriminar entre lo propio no infeccioso y lo no propio infeccioso. Dos características de la misma son el carecer de especificidad y no tener memoria.

La forma más simple de impedir la infección es impedir el acceso de los microorganismos al cuerpo. La principal línea de defensa es la piel, que intacta es impermeable a la mayoría de los agentes infecciosos, además, gran parte de las bacterias sobreviven poco tiempo sobre la piel, debido a la inhibición producida por el ácido láctico, ácidos grasos del sudor y secreciones sebáceas unido al bajo pH que crean. El moco secretado por las membranas que revisten las superficies internas del organismo actúa como una barrera protectora, las partículas microbianas son atrapadas en el moco adhesivo y eliminadas por procedimientos mecánicos, como el movimiento ciliar, la tos y el estornudo. Las lágrimas, la saliva y la orina ejercen efecto de lavado. Muchos líquidos orgánicos contienen componentes bactericidas, como ácido en jugo gástrico, espermina y cinc en el semen, lactoperoxidasa en la leche y lisozima en las lágrimas, secreciones nasales y saliva.

Un mecanismo diferente es el antagonismo microbiano asociado con la flora bacteriana normal del organismo, que suprime el crecimiento de muchas bacterias y hongos potencialmente patógenos; cuando se alteran los comensales protectores aumenta la susceptibilidad a infecciones oportunistas, es el caso del mal uso de antibióticos.

Si los microorganismos consiguen ingresar en el organismo, comienzan dos operaciones defensivas: el efecto protector de factores químicos solubles como las enzimas bactericidas, y el mecanismo de fagocitosis (en sentido literal “comido” por la célula).

Barreras contra la infección (3):

- Células fagocíticas destructoras de microorganismos
- El complemento, facilitador de la fagocitosis
- Reacción inflamatoria aguda
- Mecanismos humorales como segunda estrategia defensiva
- Muerte extracelular.

La fagocitosis, fue descubierta por el embriólogo e inmunólogo ruso, Elie Metchnikoff (6) quien describió que ciertas células especializadas median la defensa contra las infecciones microbianas, por lo que es el padre del concepto general de inmunidad celular. Tras muchas observaciones experimentales, demostró la capacidad de los leucocitos de mamíferos de captar microorganismos mediante un mecanismo que denominó fagocitosis (7).

Definió la existencia de dos tipos de fagocitos circulantes: el leucocito polimorfonuclear, que denominó micrófago, y el macrófago de mayor tamaño.

El neutrofilo polimorfonuclear es la célula más pequeña de las dos y es el glóbulo blanco dominante en el torrente sanguíneo. Los macrófagos, derivados de los promonocitos de la médula ósea, constituyen el sistema fagocítico mononuclear. Se encuentran en el tejido conectivo, la basal de los pequeños vasos sanguíneos, en mayor concentración en los pulmones, hígado, bazo y senos medulares de los ganglios linfáticos, donde filtran el material extraño.

Si los polimorfonucleares son la principal defensa contra bacterias piógenas, los macrófagos están más preparados para combatir las bacterias, los virus y los protozoos capaces de vivir dentro de las células del huésped.

Los parásitos de gran tamaño, no pueden ser fagocitados físicamente. La destrucción extracelular corre a cargo de los eosinófilos, variedad de leucocito, que parece haber evolucionado para resolver este problema. El eosinófilo lanza su ataque extracelular con la liberación de proteínas básicas y, en especial, la proteína catiónica que daña la membrana del parásito por lo que se fragmenta y puede ser fagocitado.

El complemento, conjunto complejo de alrededor de 20 proteínas, facilita la fagocitosis, produciendo una respuesta rápida y amplificada frente a un estímulo desencadenante mediado por un fenómeno en cascada, en el cual el producto de una reacción es el catalizador enzimático de la próxima. En síntesis, el complejo terminal puede inducir lesiones de membrana y lisis celular.

También puede favorecer los procesos fagocíticos inespecíficos, e inducir una copiosa secreción celular de mediadores solubles de la respuesta inflamatoria aguda.

No es eficaz en la lisis de membranas celulares autólogas del huésped, debido a la presencia de proteínas de control.

En la reacción inflamatoria aguda, los mastocitos, células cebadas que sintetizan y almacenan histaminas implicadas en la defensa frente a los patógenos, junto con componentes del complemento a través de la liberación de mediadores, intervienen en el reclutamiento de fagocitos polimorfonucleares hacia el sitio de la invasión microbiana y participa en la respuesta inflamatoria aguda.

Los mecanismos humorales proporcionan una segunda estrategia defensiva, además de la lisozima, las defensinas peptídicas y el sistema de complemento, otras defensas como la proteína C reactiva y la proteína fijadora de manosa aumentan en la infección. También el interferón, proteína producida por las células parasitadas por un virus y que la hace resistente a otras infecciones víricas, bloquea la replicación del virus.

Para evitar la muerte extracelular, los virus necesitan penetrar en la célula del huésped con el fin de apropiarse de su maquinaria de replicación ya que carece de los sistemas necesarios para la autorrenovación. El huésped ha de eliminar las células infectadas antes de que el virus se reproduzca, esta función la cumplen las células NK, al menos *in vitro*.

Las células blanco reciben la orden de suicidarse. Mientras el complemento induce la lisis celular por daño en sus membranas, las células NK destruyen por activación de la apoptosis (muerte celular programada), un mecanismo presente en todas las células que lleva a la autoinmolación. La apoptosis es mediada por una cascada de enzimas proteolíticas denominadas *caspasas*.

1.1.2 inmunidad adaptativa, específica

Nuestros adversarios microbianos poseen oportunidades notables para desarrollar estrategias, por medio de mutaciones, que les permitan superar nuestras barreras inmunitarias innatas, por ello el organismo necesita diseñar mecanismos de defensa dirigidos individualmente contra cada uno de estos microorganismos, ello es la razón de la inmunidad adaptativa.

Esta inmunidad es compleja y eficaz, disponiendo de células y moléculas extraordinariamente específicas para cada una de las sustancias y microorganismos patógenos existentes en la naturaleza.

Este sistema, además de poder actuar contra los gérmenes o las células infectadas por ellos, desencadena la acción de mecanismos inespecíficos como la fagocitosis o la activación del complemento, poniendo en marcha fenómenos inflamatorios inespecíficos, ampliando así la potencia del huésped para erradicar y destruir los microorganismos patógenos.

El sistema inmunitario específico es responsabilidad de los linfocitos (8). Estas células, a lo largo de su desarrollo, adquieren los mecanismos genéticos para expresar receptores específicos para cada una de las múltiples sustancias (antígenos), que pueden existir en el medio ambiente.

Estos receptores se hallan distribuidos clonalmente (clona = una célula y las derivadas de ella por división celular) y permite que los linfocitos que los expresan se unan al antígeno para el que son específicos; pero para poder reconocerlos necesitan de otras células como presentadoras, los monolitos, macrófagos y células dendríticas, denominadas células accesorias.

La respuesta no se produce inmediatamente tras el primer contacto. Ha de transcurrir un período de tiempo, para que los linfocitos específicos que se unieron al antígeno proliferen, amplíen su número, y además, experimenten cambios madurativos que, en un tipo de linfocitos conduce a la secreción de moléculas específicas para el antígeno que los estimuló (anticuerpo), en otros al desarrollo de la actividad citolítica contra las células en cuya membrana se halla el antígeno, y en otros a la liberación de factores que activan a las células fagocíticas aumentando su capacidad bactericida.

El anticuerpo es el adaptador específico, es una molécula con capacidad intrínseca para activar el sistema del complemento y estimular las células fagocíticas, además de adherirse al microorganismo agresor. Así, el adaptador contiene tres regiones principales, dos que comunican con el complemento y los fagocitos (funciones biológicas), y una que se fija a un microorganismo en particular (función de reconocimiento externo). La parte del adaptador con función biológica es constante, pero para cada uno de los cientos de miles de microorganismos diferentes se requiere una porción de reconocimiento especial. En consecuencia, el cuerpo debe elaborar cientos de miles, incluso millones, de adaptadores con distintos sitios de reconocimiento.

La base celular de la producción de anticuerpos está en los linfocitos. El antígeno selecciona los linfocitos que elaboran anticuerpos.

Cada linfocito de un subtipo denominado linfocito B, diferenciado en la médula ósea, esta programado para elaborar sólo un anticuerpo, al que ubica sobre su superficie externa para actuar como receptor.

Cada linfocito posee en su superficie moléculas idénticas de anticuerpo del orden de 10^5 . Cuando un antígeno penetra en el organismo se enfrenta a los linfocitos, cada uno portador de un anticuerpo distinto y con su propio sitio de reconocimiento. El antígeno solo se fija al anticuerpo con el que coincide de forma exacta, entonces los linfocitos cuyos receptores se unieron al antígeno reciben una señal desencadenante y se desarrollan como células plasmáticas formadoras de anticuerpos, y dado que los linfocitos están programados para elaborar sólo un anticuerpo, el secretado por las células plasmáticas será idéntico al que actuó en principio como receptor del antígeno.

Dado que se pueden elaborar millones de moléculas de anticuerpo diferentes, y que sería imposible mantener almacenados muchos linfocitos productores de cada tipo de anticuerpo, los linfocitos estimulados por contacto con el antígeno sufren ondas sucesivas de proliferación para formar un gran clon de células plasmáticas, elaboradoras del tipo de anticuerpo para el que fue programado el linfocito original.

Los anticuerpos recién formados requieren cierto tiempo para alcanzar la cantidad suficiente y son consecuencia de la exposición previa al antígeno, por lo que se habla de respuesta inmune adquirida. Los anticuerpos, al unirse al antígeno, también desencadenan cascadas de los mecanismos inespecíficos, promoviendo la fagocitosis y la activación del complemento que tiene actividad lítica sobre las membranas.

Durante la fase de expansión clonal, tiene lugar un proceso de aprendizaje con memoria; así en el próximo contacto del huésped con el antígeno se repetirá la misma respuesta pero con mayor intensidad y en un tiempo más corto como consecuencia del “precalentamiento” o el cebado del sistema productor.

La inmunidad celular protege contra los microorganismos intracelulares, pues los anticuerpos humorales no llegan a ellos. Por ello se desarrolló un sistema inmune totalmente distinto, basado en una subpoblación específica compuesta por células T, que se diferencian en el timo.

Dado que están especializadas para operar contra células portadoras de microorganismos intracelulares, las células T sólo reconocen el antígeno cuando se encuentra en la superficie de una célula del organismo.

Los individuos con graves defectos en la formación de las células linfocitarias son incapaces de desarrollar una respuesta inmunitaria y sucumben ante los agentes patógenos, a pesar de que su sistema inespecífico este indemne.

Otro aspecto fundamental es que los linfocitos, a lo largo de su desarrollo, simultáneamente a la adquisición de receptores para responder específicamente frente a los múltiples y variados agentes patógenos y sustancias, deben aprender a mantener una falta de respuesta o estado de tolerancia para los componentes del propio organismo y no dañarlos como ocurre en las enfermedades autoinmunes: sería la capacidad de discriminación entre lo propio y lo no propio; la falta de esta cualidad podría inducir la síntesis de anticuerpos dirigidos contra componentes del propio organismo (autoanticuerpos). El mecanismo desarrollado para distinguir lo propio de lo no propio es el “reconocerse” como propios los componentes circulantes del organismo en desarrollo en el período perinatal, creándose una falta de respuesta o tolerancia permanente hacia los componentes “propios” en el curso de la vida. No obstante esta tolerancia, en todos los seres humanos existen linfocitos contra lo propio con potencial lesivo (3).

Los linfocitos, que son las células responsables de las respuestas inmunitarias, se hallan distribuidos por todo el organismo y en constante circulación.

Un adulto posee 2×10^{12} linfocitos y su peso es alrededor de 1 Kg, equivalente al peso del cerebro o del hígado y, a pesar de estar diseminados, ocupan un amplio espacio en el organismo.

Las células del sistema linfocitario están en estrecho contacto entre sí a través de moléculas (inmunoglobulinas, linfocinas, complejos antígeno-anticuerpo, factores solubles colaboradores o supresores), o bien mediante contacto celular. Esta libertad de los linfocitos de conectar unos con otros constituye la base estructural que posibilita que el sistema inmunológico posea un alto grado de regulación interno, basado en el hecho de que está compuesto por células con funciones muy diversas, incluso contrapuestas, cuya interacción permite la existencia de un estado de equilibrio autorregulado.

La especificidad, la memoria y su carácter adaptativo (o de fenómeno adquirido y aprendido) son los rasgos definitorios de la respuesta inmunitaria específica.

1.2 DESARROLLO DE LOS MECANISMOS DE DEFENSA

Comienza durante la gestación pero no está completo hasta el nacimiento. La maduración y la expansión del sistema inmune comienzan muy precozmente, aunque sigue evolucionando durante los primeros años de vida.

La inmunidad específica comienza su desarrollo en la vida fetal, 4^a-8^a semanas de gestación, con la aparición de las primeras células madre hematopoyéticas que dan lugar a las líneas celulares de linfocitos y mielomonocitos.

Las células T, responsables de los mecanismos de defensa celular, son detectables por primera vez a las 12 semanas y parece que adquieren su capacidad funcional a las 16 semanas.

Los linfocitos B, responsables de la inmunidad humoral, pueden ser identificados en el hígado fetal a las 8 semanas y son funcionales a las 12-13 semanas, con la posibilidad de producir anticuerpos IgM específicos. De este modo, en teoría, los fetos de más de 16 semanas pueden producir una respuesta inmune total (8, 9).

La formación y maduración de las células sanguíneas, entre ellas las responsables del sistema inmunológico, tiene lugar en diversos sitios del organismo: la médula ósea, el timo, el bazo, los ganglios linfáticos y las amígdalas conformando el sistema linfoide que ocupan en etapas progresivas del desarrollo (10,11).

Una parte decisiva en el desarrollo celular es el control que ejerce el microambiente en la regulación de la hematopoyesis, más importante para el compartimento de células madre que para el resto de células. Esta hemopoyesis está regulada por mecanismos de gran complejidad, en los que las células hemopoyéticas interactúan entre sí, con su microambiente, con factores de crecimiento y con la matriz extracelular.

La célula germinal hematopoyética pluripotente, capaz de auto renovarse y dar lugar a todas las líneas celulares sanguíneas, estará influida y condicionada por este microambiente en su diferenciación (9, 12).

Gasparoni y cols en el año 2000 publican un estudio de antígenos en las células progenitoras hematopoyéticas, obtenidas de cordones umbilicales de fetos de diferentes edades gestacionales, de neonatos prematuros y recién nacidos a término, para conocer los cambios inmunofenotípicos a lo largo de la gestación. El estudio se realizó con citometría de flujo y hallaron una correlación significativa entre la edad gestacional y la capacidad proliferativa y cambios significativos en los linajes celulares a diferentes edades gestacionales. Sugieren que el desarrollo y linaje de las células progenitoras hematopoyéticas es muy activo durante los dos últimos trimestres de la gestación (13).

En los estudios de la actividad inmunológica, las respuestas tanto in vivo como in vitro de los neonatos son diferentes a las del adulto (14), pues los neonatos tienen todavía incompleto el desarrollo de un número de componentes de la inmunidad inespecífica, células Natural Killer, quimioatracción polinuclear y macrófaga, sistema de complemento (8,10)

Las células inmunitarias se inician y evolucionan en los órganos linfocitarios, los cuales tienen una localización somática y funciones definidas, conocidas y diferenciadas. Estos órganos se dividen en primarios o centrales y secundarios.

1.2.1 órganos primarios o centrales

Donde se produce la linfopoyesis, es decir, donde los linfocitos se originan y maduran hasta convertirse en células inmunológicamente competentes, capaces de reconocer y responder de forma específica a los estímulos antigénicos: la médula ósea y el timo.

1.2.1.1 médula ósea

Es el órgano hematopoyético fundamental, inicia su vida activa como centro funcional a partir del 5º mes de vida fetal, cuando se depositan en ella las Células Hematopoyéticas Pluripotenciales (CHP). Las CHP son de origen mesodérmico y en el embrión aparecen inicialmente en el saco vitelino para, a la 6ª semana trasladarse al hígado y al 5º mes, a la médula ósea.

El microambiente inductor de diferenciación linfoide hace que los linfocitos que maduran en ella se transformen en linfocitos B.

Los linfocitos B son los que, en respuesta al estímulo antigénico producirán anticuerpos, inmunoglobulinas responsables de la llamada inmunidad humoral.

En las aves estos linfocitos se originan en un órgano linfoepitelial denominado bolsa de Fabricio, de ahí el nombre de linfocitos B.

La médula ósea, o el hígado fetal, además de ser la fuente de todos los progenitores linfoides, contiene también el microambiente que induce la diferenciación de tales progenitores hasta linfocitos B, si bien se desconocen los componentes celulares/ambientales que lo integran.

El microambiente medular engloba un conjunto de sustancias químicas y hormonales, y diversos tipos celulares.

Cada tipo celular se desarrolla en un ambiente específico de la médula ósea denominado nicho, formado por elementos del microambiente que, además de intervenir en el proceso de diferenciación celular, ofrece a la célula soporte físico y un punto de adhesión.

Esta hemopoyesis, en la médula ósea, está regulada por mecanismos de gran complejidad, en los que las células hemopoyéticas interactúan entre sí, con su microambiente, con factores de crecimiento y con la matriz extracelular.

En la médula ósea, a partir de la célula madre pluripotencial “stem cell”, aparecen la célula germinal mieloide y la célula germinal linfoide que darán lugar a los precursores, reconocibles morfológicamente, que pasarán a sangre periférica como células dendríticas (células del sistema inmune capaces de fagocitar virus y bacterias), monocitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, hematies y plaquetas en el caso de la serie mieloide y como linfocitos en la linfoide (11,12).

La existencia de estas células con capacidad para reproducirse, en las diversas líneas celulares, se conoce gracias a los trasplantes de médula ósea con donante alogénico, y a la demostración inequívoca de que la hematopoyesis del donante origina todas las líneas hematopoyéticas en el receptor (23).

Hacia los 18 días del desarrollo fetal aparecen las primitivas células hematopoyéticas en el interior de los vasos del mesoderma, en el saco vitelino, con la presencia de stem cells, a las 4,5 semanas del desarrollo se pueden encontrar precursores granulomonocíticos y eritrocíticos además de las células pluripotenciales. Virtualmente todos los progenitores celulares han desaparecido de este tejido a la 6ª semana y el saco vitelino desaparece alrededor de los 45 a 50 días post-fecundación.

Todos estos precursores han sido detectados a las 4,5-5 semanas en el hígado rudimentario, incrementándose rápidamente al tiempo que desaparecen en el saco vitelino. Los linfocitos B se han detectado en el hígado fetal alrededor de la 9ª semana de gestación.

La hematopoyesis medular comienza en la 11ª semana del desarrollo en las estructuras mesodérmicas, se desarrolla de forma explosiva y a las 15 semanas está densamente ocupada por células de las series eritroide y granulocítica (15).

1.2.1.2 timo

Es un órgano linfoepitelial de aparición muy temprana en el hombre, es el primer órgano linfoide que aparece y su estructura está completamente desarrollada en el tercer mes de gestación. Deriva de un esbozo epitelial formado a partir de la tercera y cuarta bolsas faríngeas, es bilobulado y, está localizado retroesternalmente sobre la cara anterior del pericardio. Es imprescindible para la adquisición de la inmunocompetencia de los linfocitos T (11).

En el timo humano se desarrollan las células T durante la vida fetal, que después de la maduración emigran a los tejidos periféricos como bazo, intestino y ganglios linfáticos, tiene una enorme capacidad regenerativa durante el desarrollo fetal.

Con el tiempo esta capacidad decrece y posteriormente se produce la involución, en parte, derivada de las citocinas y de otros factores producidos por las células inmunes periféricas dentro del espacio perivascular del timo (16).

El parénquima tímico está formado por una malla de células epiteliales rellena de linfocitos, denominados timocitos, organizada en forma de lobulillos; en cada lobulillo se distingue una zona externa o corteza que contiene la mayoría de los timocitos y una zona interna o médula muy pobre en ellos. A partir de la octava o novena semana de gestación, la malla epitelial del timo humano se halla poblada de timocitos.

Su tamaño se incrementa a partir de la vida fetal y postnatal hasta la pubertad, en que involuciona.

En la corteza se hallan la mayoría de los timocitos (85-90%). Para poblar el timo de timocitos se precisa la entrada de un pequeño número de pretimocitos en escasas oleadas, que tienen lugar durante el desarrollo embrionario, con grandes períodos intermedios sin entrar células.

En la parte más periférica, subcapsular, de la corteza se hallan timocitos grandes de aspecto blástico, con gran capacidad proliferativa, capaces de reproducirse a si mismos y dar lugar a los timocitos de la corteza profunda, que son pequeños y no proliferan. Constituyen el 5-15% de todos los timocitos y derivarían de los pretimocitos procedentes de la médula ósea o del hígado fetal.

A partir de los timocitos subcapsulares se generan cerca del 100% de los timocitos. Cada día se genera el 30% de todos los timocitos y sólo emigra diariamente a la periferia el 1% de ellos, la masa total de timocitos se renueva cada 3 días y el 90% de ellos tiene por destino morir en el timo.

Los timocitos corticales son inmaduros tanto fenotípica como funcionalmente. Pueden ser destruidos por los corticoides por carecer de los enzimas que los catabolizan; por este motivo, en la pubertad, la liberación de hormonas sexuales y de la corteza suprarrenal provocan su reducción.

Los timocitos medulares son de tamaño intermedio entre los subcapsulares y corticales, muestran resistencia a los corticoides y características fenotípicas y funcionales prácticamente idénticas a los linfocitos T inmunocompetentes.

Actualmente no está dilucidada cual es la vía madurativa de cada grupo de timocitos ni que factores determinan que unos vivan y otros no.

Durante su maduración intratímica los timocitos:

- a) se bifurcan en las distintas subpoblaciones funcionales de linfocitos T, cooperadores, citotóxicos, que se describirán más adelante
- b) adquieren los receptores específicos para los antígenos, a los que posteriormente van a enfrentarse.

c) son educados para reconocer el antígeno de forma conjunta con las moléculas de clase I (linfocitos T citotóxicos), o con las de clase II (linfocitos T cooperadores) del complejo principal de histocompatibilidad.

d) adquieren tolerancia para los propios componentes del organismo.

Se desconocen los factores que gobiernan este proceso, así como los que determinan que los progenitores de la médula ósea emigren al timo.

En la médula, se hallan células epiteliales de forma estrellada, así como células dendríticas derivadas de la médula ósea y unas estructuras denominadas corpúsculos de Hassall, formados por células y macrófagos dispuestos concéntricamente, que se cree intervienen en la muerte masiva de linfocitos actuando a manera de cementerios

El periodo neonatal está marcado por un debilitamiento de la inmunidad adaptativa e innata. Hay una depleción de CD4, CD8 y timocitos en el timo neonatal humano. Esta reducción, motivada por una incrementada ratio de la muerte celular, puede ser observada tan precozmente como el primer día de vida. Un notable refuerzo de la capa celular epitelial subcapsular, así como un incremento en la matriz extracelular intralobular, acompaña las modificaciones en la población de timocitos. Estos hallazgos pueden responder de las diversas alteraciones que afectan el pool de linfocitos T en el periodo neonatal. Los subgrupos de células accesorias que expresan CD4 y CD8, fenotipo de células T periféricas, no están maduras (17, 18).

En el timo adquieren los linfocitos T CD4 y CD8 las linfocinas específicas que secretarán durante las reacciones inmunes, como resultado de los distintos patrones de linfocinas adquiridos (19).

Los precursores tímicos fetales son diferentes de los timocitos adultos y de los precursores hepáticos de las células T. Se propone el modelo en el que la migración desde el hígado fetal al timo, desencadena la transición de la etapa fetal a la adulta en la diferenciación intratímica de las células T (20).

1.2.2. órganos secundarios

Son en los que se disponen los leucocitos ya maduros e inmunológicamente competentes y, donde se producen las respuestas inmunitarias frente a los estímulos antigénicos; incluyen los ganglios linfáticos, el bazo y el tejido linfoide asociado a las mucosas del tracto respiratorio y gastrointestinal, como son las amígdalas, las adenoides y las placas de Peyer (11).

1.3 CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNITARIO

1.3.1 linfocitos

Son las células inmunocompetentes y responden con especificidad y memoria frente al estímulo antigénico.

Es la unidad anatómico funcional del sistema inmunitario. Al igual que las demás células hemáticas, proceden de la célula hematopoyética primordial (CHP), de la que derivan los progenitores de la serie mieloide-eritroide y los progenitores de la serie linfoide que, además de reproducirse a sí mismas, pueden completar su diferenciación hasta las distintas células hemáticas maduras, bajo la influencia de los distintos inductores de diferenciación.

En la médula ósea darán lugar a los linfocitos B y los que maduren en el timo, a los linfocitos T.

A finales de los años 50, la observación de Robert Good de un niño con hipogammaglobulinemia y timoma motivó un proyecto de investigación que lo llevo a establecer la relación del timo y la respuesta inmunitaria (21).

Los experimentos animales sobre timectomía y bursectomía, la reimplantación con timocitos y con células de la médula ósea hizo llegar al conocimiento de la inmunocompetencia de los linfocitos y de la existencia de dos grandes compartimentos.

1.3.1.1 linfocitos T

Son las células alrededor de las que pivota prácticamente toda la respuesta inmune, pues su población es la primera que se estimula y la encargada de colaborar en todo tipo de respuesta a través de interacciones celulares y de la producción de mediadores solubles.

Proceden de la CHP pluripotente localizada en el hígado fetal o en la médula ósea, de la que se diferencian progenitores linfoides inmaduros que se dirigen hacia el timo, donde completarán su maduración hasta linfocitos T inmunocompetentes que pasaran a la periferia a través de la circulación sanguínea. Los pretimocitos ya adquieren en la médula ósea las características que les inducen a seguir este camino. Son responsables de las respuestas inmunitarias mediadas por células, como el rechazo de injertos no histocompatibles, de la reacción de “injerto contra el huésped”, de la respuesta proliferativa in vitro frente a las células alogénicas y de las reacciones de hipersensibilidad retardada.

Tienen una gran heterogeneidad funcional: los hay con funciones reguladoras y funciones efectoras.

Con funciones reguladoras son los T cooperadores (Th-"helper"), que proporcionan ayuda a las células B para que puedan producir anticuerpos y a otros linfocitos T para inducir en ellos funciones efectoras; y los linfocitos T supresores (Ts), que ejercen funciones inhibitorias opuestas a los Th.

Y con funciones efectoras, los linfocitos T citotóxicos, que lisan las células sobre las que se halla el antígeno frente al que son específicos por un mecanismo de contacto célula-célula distinto al de la fagocitosis y son los responsables de reacciones de hipersensibilidad retardada. En respuesta al antígeno, liberan factores solubles inespecíficos que atraen y activan a los macrófagos, incrementando su capacidad fagocítica y bactericida, reacción en realidad inducida por las células T cooperadoras.

A lo largo de su diferenciación, los timocitos van modificando determinadas estructuras en su superficie que podemos reconocer con anticuerpos monoclonales (2) y que han sido llamados antígenos de diferenciación. Se ha adoptado una nomenclatura internacional para estos antígenos, que son llamados con las siglas CD (cluster of differentiation: grupos de diferenciación)

Los principales antígenos de diferenciación de las células T van desde CD1 hasta CD29.

Los linfocitos T-CD4 – células T inductoras/cooperadoras, cuyo antígeno tiene un peso molecular (kDa) de 60, están distribuidos en los timocitos y dos tercios de células T maduras y tienen TCR (T cell receptor) para reconocer HLA (antígeno de histocompatibilidad) clase II. Un 65% de los linfocitos T maduros expresa CD4, incluyendo a los linfocitos T con funciones inductoras/cooperadoras para las células B y para las otras células T efectoras, así como para la inducción de las células T supresoras. Dentro de los linfocitos CD4 se hallan también los que inducen reacciones de hipersensibilidad retardada.

Los linfocitos T CD8 – células T supresoras/citotóxicas - con un peso molecular antigénico (kDa) de 32, distribuidos en los timocitos y un tercio de células T maduras, tienen TCR que reconoce HLA clase I, que incluyen a las células efectoras T citotóxicas, así como a los linfocitos T con funciones supresoras. De los linfocitos T maduros, un 35% expresan CD8.

La proporción CD4/CD8 suele ser 2/1. Ambos, CD4 mas CD8, constituyen la casi totalidad de los timocitos (> 80%), y son los responsables de la inmunidad.

Dado que las células T sólo reconocen el antígeno cuando está en la superficie de una célula del organismo, los receptores de las células T, que son diferentes de las moléculas de anticuerpos utilizados por los linfocitos B, reconocen el antígeno más un marcador de superficie que informa al linfocito T que está en contacto con otra célula. Estos marcadores celulares pertenecen a un grupo de moléculas denominadas complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Por medio de este reconocimiento del antígeno de superficie, la célula citotóxica entra en contacto íntimo con su célula blanco y administra el "beso de la muerte por apoptosis".

Las células T productoras de citocinas contribuyen a que los macrófagos destruyan patógenos intracelulares. Cuando estos microorganismos alteran los mecanismos defensivos de estas células, una subpoblación de linfocitos T denominada células T helper se fijará a la combinación del antígeno y las moléculas CMH clase II, ubicadas en la superficie del macrófago y producirá factores solubles denominados citocinas. Los distintos tipos de células pueden elaborar distintas citocinas.

Algunas citocinas de células T ayudan a las células B a elaborar anticuerpos, mientras que otras, como el interferón γ ($IFN\gamma$), actúan como factores activadores del macrófago y contribuyen a limitar la diseminación de los microorganismos a las células adyacentes (8).

En forma análoga a las células B, las células T son seleccionadas y activadas por la combinación con el antígeno, se expanden por proliferación clonal y maduran para generar células T helper y células efectoras T citotóxicas, además de células memoria. Se han identificado conexiones moleculares en la cooperación de células B y T helper; sin embargo, actualmente se conoce poco acerca de las interacciones T-T (22).

Las alteraciones en el sistema inmune que disminuyen la eficacia de la respuesta frente a la infección, pueden ser debidas a cambios cuantitativos o funcionales que afecten a las poblaciones celulares. Esto puede verse por cambios en la distribución de antígenos sobre la superficie celular, de los linfocitos de sangre periférica, por el predominio en sangre de cordón de células T que tienen una baja regulación de la respuesta inmune, o porque la sangre de cordón ejerce una actividad supresiva sobre la respuesta inmune in vitro y también una deficiencia de células T memoria. Todo ello apoya la hipótesis de que la alterada representación de estas subpoblaciones es un aspecto importante de la inmunodeficiencia neonatal (23-27).

Se ha observado que la reactividad inmunológica de los leucocitos neonatales está disminuida; en neonatos observamos el incremento en el número absoluto de varios subgrupos, entre ellos CD4 y CD8, mientras otros están disminuidos. Los ratios CD4/CD8 y T/B linfocitos fueron similares a los correspondientes ratios de los adultos, pero la depleción de algunas subpoblaciones (CD57) y la presencia de poblaciones linfocitarias inmaduras puede suponer un incrementado riesgo de infecciones en el neonato. Por otra parte el incrementado número de T y B fenotípicamente maduros, con ratio normal de las poblaciones linfocitarias e incrementado número de NK (CD16), explican la buena salud en la mayoría de los recién nacidos (28-35).

1.3.1.2 linfocitos B

Proviene de la CHP que se halla en la médula ósea, lugar en donde se diferencian sin ningún contacto con los antígenos. Su proceso de maduración desde los precursores más inmaduros puede seguirse a través de la expresión de las inmunoglobulinas.

Los precursores más inmaduros, denominados pre-preB, pueden identificarse por las moléculas de membrana definidas por anticuerpo monoclonal (AcMo). En el primer estadio, carecen de Ig de membrana, son de aspecto linfoblástico y tienen actividad proliferativa: son las células pre-B (presentes en el hígado fetal desde la 8ª semana).

Posteriormente sintetizan IgM de superficie en forma de monómeros, son linfocitos inmaduros y poco después sintetizan IgD. Los linfocitos B con IgM e IgD de membrana se denominan maduros porque son plenamente capaces de responder a los estímulos con antígenos T dependientes.

Este proceso de maduración en la médula ósea es independiente del estímulo antigénico y se desconocen los factores que lo determinan.

Una vez maduros, pasan a través de la circulación sanguínea a los órganos linfoides periféricos localizándose en los folículos linfoides; tras el estímulo antigénico se activan y proliferan dando lugar al centro germinal dentro del folículo linfoide, una vez en ellos, si entran en contacto con el antígeno, se produce una proliferación celular que termina en la formación de células plasmáticas productoras de anticuerpos.

Con la activación/proliferación la IgD desaparece y disminuye la IgM y además, experimentan un cambio de clase de las inmunoglobulinas de membrana pasando a expresar IgG o IgA.

La célula plasmática es el estadio terminal de maduración del linfocito B. Se calcula que la célula plasmática secreta alrededor de 2.000 moléculas de inmunoglobulina por segundo. Estas células tienen una vida media de 7 días.

El linfocito B maduro no siempre se transforma en célula plasmática al entrar en contacto con el estímulo antigénico sino que puede convertirse en célula con memoria semejante al linfocito T maduro, pero en su membrana expresan IgG o IgM e IgG o IgA responsables de la respuesta secundaria y circulante durante meses o años.

1.3.1.3 células NK

Pertencen a la inmunidad innata, inespecífica, natural, no adaptativa. Estas células agresoras naturales poseen capacidad para lisar otras células por un mecanismo distinto al de la fagocitosis.

Son una parte de la población linfoide de la sangre, son mayores que el resto de los linfocitos, tienen un citoplasma más abundante y presentan una granulación azurofila que las diferencia por su aspecto microscópico.

Las células NK representan alrededor del 35% de las células linfoides del hígado, el 25% de las células linfoides en el pulmón, el 15% de las células nucleadas del bazo, el 10% de las células mononucleares de la sangre, el 0,5% de las células nucleadas de la médula ósea, el 0,2% de las células nucleadas en los nódulos linfáticos y sólo un pequeño porcentaje se encuentra en el timo.

El número total de células NK en el cuerpo humano es menor del 10% de la población linfocítica total (36). Su número y porcentaje varían con la edad, aunque los resultados difieren en los diferentes estudios (37,38).

Su función comenzó a ser entendida cuando se descubrió que eran las protagonistas del fenómeno llamado citotoxicidad natural, en el que se observa que el contacto de los linfocitos NK con determinadas células tumorales induce la lisis y muerte de éstas. Esa actividad, a diferencia de otros tipos de respuesta inmunitaria, no requería sensibilización previa ni estaba mediada por el reconocimiento de antígenos específicos en asociación a moléculas del sistema principal de histocompatibilidad.

La actividad de las células NK ha sido observada en el hígado fetal a las 9 semanas de gestación, lo que corrobora el concepto del desarrollo intrauterino de su actividad. Aunque en la sangre de cordón los linfocitos de los prematuros expresan un buen desarrollo de la capacidad NK, el nivel de citotoxicidad fue menor que en los recién nacido a término y en los adultos (9).

El hecho de que no se demostrara especificidad ni memoria en el reconocimiento de antígenos, junto con la ausencia de receptores antigénicos específicos, hizo pensar que las células NK reconocían y destruían las células tumorales de forma inespecífica. Además, ciertas sustancias proteicas solubles producidas principalmente por células T, llamadas citocinas, eran capaces no sólo de aumentar la actividad citolítica NK, sino también de ampliar el espectro de células tumorales sensibles a la citolisis.

Cuando se dispuso de AcMo frente a proteínas de la membrana de los linfocitos, se comprobó que esta población expresa una combinación de estas proteínas de superficie. Esto, además de permitir diferenciar las células NK de otras estirpes linfoides, sugiere que estas proteínas de membrana pueden estar encargadas de mediar parte de las funciones ejercidas por la célula.

Estos linfocitos pueden ser identificados, en el hombre, por los antígenos de superficie con fenotipo CD3, CD16 y CD56.

Son una subpoblación de linfocitos distinta de las células B y T que poseen la facultad de mediar en la producción de la citotoxicidad y las citocinas, siguiendo la estimulación inmune (40,41,42). Pueden generarse en un linaje celular separado del resto de los linfocitos y pueden variar su fenotipo, morfología y capacidad funcional durante la diferenciación (43). En sangre del neonato el fenotipo de las NK aún es inmaduro lo que puede contribuir al bajo potencial de citotoxicidad de los linfocitos neonatales (44,45) y por ello baja actividad, que se correlaciona con mayor morbilidad neonatal (46,47). Esta baja actividad de las células NK también la presentan las gestantes en los tres trimestres del embarazo y en el postparto inmediato. Los resultados sugieren que la observada disminución de la actividad NK en las mujeres embarazadas y los recién nacidos surgen por diferentes mecanismos: una falta de madurez de las células NK en el recién nacido y una alteración de las células NK en el embarazo (48).

La citotoxicidad de las células NK en el neonato pretérmino y a término es menor que en los adultos, y durante el primer mes de vida no se incrementa, aunque sea significativamente más alta a partir de los 6-12 meses. Se puede concluir que la actividad de las células NK evoluciona durante la gestación, aunque no está totalmente desarrollada durante el primer mes de vida (49,50).

Hay hallazgos sugestivos de que las células NK pueden jugar un importante papel en la maduración tímica, pues el timo fetal contiene diversos subgrupos de linfocitos noveles que pueden ser inducidos a incrementarse por los timocitos normales expuestos a ciertas citocinas (51).

Se cree que las células con actividad NK capaces de lisar ciertas células, generalmente líneas tumorales, por un mecanismo de contacto célula-célula distinto de la fagocitosis sin ningún tipo de especificidad ni memoria, y que están involucradas en la inmunovigilancia frente a las células tumorales además tienen un papel en la defensa antimicrobiana; son capaces de matar los patógenos extracelulares y las células infectadas por virus, rikettsias, parásitos o bacterias; e incrementan la capacidad bactericida de los monocitos. Son responsables del primer mecanismo de defensa del huésped, frente a ciertas infecciones, y pueden ser particularmente importantes para proteger al niño antes de la maduración de su sistema inmune (52,53).

Estas células median su resistencia viral por un mecanismo diferente al antiviral o anticuerpo "natural" (54). Se han distinguido, en sangre de cordón, dos distintos tipos de células efectoras con actividad espontánea asesina, un grupo representado por NK "clásicas" y un segundo grupo que carecen de NK-antígeno (55).

Algunos factores tienen efectos adversos sobre la actividad de las NK, como las prostaglandinas, glucocorticoides, deficiencia de hierro, fiebre e hiperglucemias; mientras que la edad gestacional, infección neonatal y preeclampsia maternas tienen efectos muy limitados o carecen de ellos sobre las NK (56,57).

También en sangre de cordón, in vitro, las células NK pueden inhibir la proliferación de progenitores eritropoyéticos por un mecanismo mediado por uno o más factores humorales (58).

1.3.1.4 Cambios madurativos y cronológicos de los linfocitos.

Las poblaciones linfocitarias muestran cambios y variaciones durante su ontogenia dependiendo de la edad gestacional, déficit nutritivos, edad, sexo, raza, forma de nacer, peso etc. indicativos de la versatilidad de este sistema y de su adaptación o variabilidad en presencia de múltiples factores.

Hay carencias nutritivas que se acompañan de afectación en los grupos celulares. Así el déficit de vitamina A da lugar a disminución selectiva de determinados subgrupos linfocitarios, poblaciones timodependientes y atrofia conjunta tímica, esplénica y nodular linfática.

Estos resultados son similares a los presentados en patología infecciosa. El aporte de vitamina A corrige estos deficit (59-61).

En muestras de sangre fetal obtenida por cordocentesis y sangre de cordón en neonatos, se halló un considerable incremento del feto al neonato; en el número absoluto de linfocitos, leucocitos y células T y una mayor actividad fagocítica y mayor división celular espontánea en la sangre de los recién nacidos prematuros y a término que en las muestras de adultos. No se hallaron diferencias al nacer según el tipo de nacimiento (parto vaginal o cesárea) en los leucocitos ni en los subgrupos linfocitarios. Sin embargo, sí las hubo de acuerdo al sexo pues los neonatos femeninos tuvieron un contaje de leucocitos muy superior a los neonatos varones.

El incremento de células T después de nacer fue seguido de una disminución tras la infancia atribuible a la involución tímica; en contraste, la proporción de células T se incrementó progresivamente. Es interesante constatar que el porcentaje de células T no concuerda con su número absoluto. Esta discordancia entre absoluto y relativo ha sido relatada por varios autores y enfatiza la necesidad de considerar ambas variables en la valoración de la maduración linfocitaria.

Los linfocitos B están elevados tanto en número como en proporción en el feto y disminuyen gradualmente a partir del nacimiento. Antes de las 28 semanas de gestación hay un incremento en el número de linfocitos B, pero su maduración ocurre principalmente al final de la gestación lo que puede contribuir a la susceptibilidad aumentada de los prematuros a la infección (62 - 66).

Pahwa y cols (96), al igual que Hulstaert F y cols (99), hallaron unos resultados similares en el periodo neonatal precoz: alto porcentaje de células CD4 y bajo de CD8 y disminución progresiva del coeficiente CD4/CD8, porque con la edad el porcentaje de CD4 disminuye y aumenta el porcentaje de CD8 y las células NK. Datos diferentes a los de Fallon M y cols (67): linfocitos CD4 marcadamente reducidos y CD8 incrementados y el total de células T inferior en el neonato al igual a lo que publican Kumar A y cols (68). También la proporción de células T fue estadísticamente reducida en los neonatos de menos de 2.000 g vs los de 2.500 g o más. Sin embargo, otros estudios con AcMo de sangre de cordón umbilical, en comparación con muestras de adultos, hallaron poblaciones similares de ambos subgrupos, CD4 y CD8, y coeficiente (69).

La presencia de linfocitos fenotípicamente inmaduros en sangre de cordón umbilical ha sido un tópico controvertido. Su estudio en sangre fetal obtenida intraútero bajo control ecografico y de cordón en los neonatos, analizadas con citómetro de flujo, ha demostrado que las células inmaduras están presentes en sangre fetal (20%) y de cordón, alcanzando los valores de la juventud alrededor de los 3-4 años; por lo que las células inmaduras están circulando en bajos niveles desde el nacimiento a la juventud. La distribución de NK es diferente en el feto, estando las células B y los monocitos en igual proporción.

El interés del conocimiento de esta peculiar distribución celular, tan precoz, es la posibilidad de su utilidad para diagnósticos de inmunodeficiencia congénita intraútero (13,70-73).

La sangre de cordón tiene una linfocitosis biológica, por ello las subpoblaciones son siempre superiores, en números absolutos, en el neonato que en el adulto.

El número total de leucocitos, linfocitos y porcentaje de células B tiene su máxima elevación en el periodo neonatal y declinan con la edad. Las células NK se incrementan con la edad.

Otros estudios hallan que al disminuir la edad de gestación todas las familias linfocitarias fueron más pequeñas y se incrementaron gradualmente hasta llegar a término. La expansión oligoclonal fue mayor de la 29 a las 33 semanas de gestación y declinó hacia el término (74).

En los varones se hallan más elevadas las células NK y el porcentaje de los linfocitos CD8, mientras en las mujeres lo son los porcentajes CD3 y CD4 y en la población asiática, en comparación con población caucasiana, se hallan más alto el porcentaje de NK y más bajo el de CD4.

Estos resultados indican que la edad gestacional, edad, sexo y diferencias raciales pueden dar diferencias en los subgrupos linfocitarios (74,75).

1.4 NEONATOS DE BAJO PESO PARA LA EDAD DE GESTACIÓN

1.4.1 concepto

La publicación del libro de Clement Smith, *The Physiology of the Newborn Infant*, en 1945, fue un hecho notable para atender de un modo racional a los recién nacidos (76).

Durante muchos años el recién nacido ha sido clasificado casi exclusivamente por el peso, como normal o de bajo peso (menos de 2.500 g) y, basándose en la apariencia del neonato y la información materna, en a término o prematuro.

En 1954 Clifford H. utilizó un esquema basado en la exploración física de los recién nacidos para clasificarlos en diversos grupos según las características físicas (77).

El concepto de recién nacido de bajo peso aparece por primera vez en el año 1961 en un trabajo de Warkany (78) y lo relaciona con un aumento de la morbilidad y mortalidad neonatal.

Por aquel tiempo, la OMS incluye bajo el diagnóstico de recién nacido de bajo peso a todos los niños con un peso al nacer inferior a 2500 g sin tener en cuenta su edad gestacional.

En 1966 L. Lubchenco publica las primeras gráficas neonatales que relacionaban peso y edad gestacional. Son las curvas de crecimiento intrauterino de Denver, aceptadas para neonatos de raza caucásica. Lubchenko y cols definen como recién nacido de bajo peso para la edad de gestación (BPEG) a todo lactante cuyo peso al nacer está por debajo del percentil 10 para su edad gestacional (79), criterio totalmente aceptado por la comunidad pediátrica y el de uso más extendido.

Gruenwal, 1966, define como BPEG a todo neonato cuyo peso al nacer está más de dos desviaciones estándar por debajo de la media para la edad gestacional, y que corresponde aproximadamente al tercer percentil de las curvas de crecimiento intrauterino (80), definición también aceptada.

Durante el II Congreso Europeo de Medicina Perinatal, celebrado en Londres en 1970, se recomendó diferenciar dentro de los niños de bajo peso al nacer (inferior a 2.500 g) dos grupos fundamentales, uno de "apropiados para la edad de gestación" y otro de "bajo peso para la edad de gestación" (81).

La relación del peso al nacer con la edad gestacional se emplea para estimar lo normal del tamaño de un neonato, aunque existen discrepancias que hablan a favor de utilizar la talla o el índice ponderal (relación peso/talla) y relacionarlo con la edad gestacional.

Para catalogar al recién nacido de BPEG hay que establecer su edad gestacional utilizando test que reúnen procedimientos morfológicos y neurológicos que combinados tienen una fiabilidad del 95%, con un error de calculo de 2 semanas. Los más conocidos son el test de Dubowitz (82) y el New Ballard Score (83).

Una vez definido el crecimiento intrauterino normal, para una población dada, se comparan los desvíos de la normalidad y se define al crecimiento como anormal sobre la base de límites estadísticos.

Calculada con la mayor exactitud la edad gestacional y recogidos sus datos de peso, talla y perímetro cefálico, se trasladan a las curvas de crecimiento intrauterino, comprobándose como algunos o todos de estos parámetros están por debajo del P10.

Como un recién nacido de cualquier edad gestacional puede tener un peso bajo, todos los recién nacidos, sean prematuros, a término o postérmino pueden ser BPEG.

1.4.2 Frecuencia

En países en vías de desarrollo la incidencia está entre el 17% y el 24% (84).

En nuestro país está entre el 2,5% y el 3,44% (85).

Estudios efectuados en USA y Gran Bretaña revelan que cerca de la tercera parte de los lactantes que nacen con un peso menor de 2.500 g, son bajo peso para la edad gestacional (86,87).

El estudio de Galbraith en Ontario (Canadá), demuestra que la incidencia de crecimiento intrauterino retardado (BPEG) en la población obstétrica total fue de 4,9%, en la población sin riesgo potencial fue de 2,3%, mientras que en la población con factores potenciales de riesgo fue de 9,8% (88).

1.4.3 Consideraciones epidemiológicas

El crecimiento fetal es regulado por factores maternos, placentarios y fetales que representan una combinación de mecanismos genéticos y de efectos ambientales a través de los cuales se expresa y modula el potencial de crecimiento genético.

Los principales riesgos maternos asociados con BPEG varían en las distintas poblaciones y entre los individuos de una misma población, y son: tamaño pequeño de la madre (talla y peso antes del embarazo) y el escaso aumento del peso durante la gestación. Un bajo Índice Ponderal ($IP = g/cm^3 \times 100$) materno es un elemento predictivo importante.

Este parámetro interactúa con otros factores de riesgo como dieta, tabaquismo, enfermedades subyacentes, medio ambiente etc. La hipotensión arterial y el tabaquismo ejercen un efecto deletéreo mayor sobre el crecimiento fetal en las mujeres delgadas (89,90).

Múltiples factores se manifiestan de forma negativa sobre el crecimiento y desarrollo fetales siendo causa de su retraso. Es difícil diferenciar la actuación de un factor particular porque habitualmente varios factores están correlacionados.

Aunque la influencia de algunos factores es conocida, con frecuencia las causas y el mecanismo íntimo que conduce al nacimiento de un BPEG son desconocidos.

a) Factores genéticos y constitucionales

Muchos genes participan en el crecimiento fetal. El genotipo materno tiene más importancia para la regulación global del crecimiento del feto y el genotipo paterno es esencial para el desarrollo del trofoblasto, involucrado en el crecimiento fetal a través del suministro de nutrientes (91).

En condiciones normales, el crecimiento fetal ocurre en respuesta a su potencial genético, salvo que la madre sea inusualmente pequeña y limite el crecimiento fetal por factores agrupados en la categoría "restricción materna". Hay observaciones experimentales que sustentan que el crecimiento fetal experimenta una restricción que proviene del medio materno; es decir, el tamaño del útero interfiere la circulación uterina y la implantación placentaria (92).

b) Factores demográficos y sociales:

Múltiples factores, algunos no médicos, pueden influir en el desarrollo fetal: la edad materna, el nivel socio-económico-cultural, el género de vida, el tipo de trabajo, la altitud, el medio urbano/rural y también factores psicológicos maternos.

c) Factores obstétricos:

El tamaño de la placenta y sus funciones de transporte son los principales factores reguladores de la oferta de nutrientes al feto y, por lo tanto, de la velocidad de crecimiento fetal.

En condiciones normales, el crecimiento placentario precede al crecimiento fetal y el crecimiento insuficiente de la placenta conduce directamente a un menor crecimiento fetal, modulado por una disminución de la capacidad de transporte placentario de nutrientes (93,94).

Tanto el crecimiento placentario como el fetal dependen de un aporte adecuado de sangre materna a la placenta. El BPEG se asocia con un desarrollo insuficiente de la circulación útero-placentaria (95,96).

Además, la llegada insuficiente de nutrientes a la placenta conduce a una menor producción de factores y hormonas reguladoras de crecimiento, tanto de la placenta como del feto: lactógeno placentario e IGF fetal (97,98).

d) Factores nutricionales:

Datos epidemiológicos indican que una reducción grave y prolongada de la ingesta calórica materna pueden dar lugar a neonatos BPEG y que las hijas de madres con esta restricción también pueden tener a su vez hijos BPEG (99-102), aunque, para que se produzca una limitación pronunciada del crecimiento fetal, es necesaria una ingesta calórica y proteica inferior al 50% de la normal durante un período prolongado del embarazo (92).

Los fetos con crecimiento retardado tienen cifras de glucosa plasmática inferiores a los de crecimiento normal (103-105). La hipoglucemia fetal relativa y las variaciones de los niveles de insulina relacionados con su fluctuación tienen una gran repercusión en los BPEG, produciendo aumento de la degradación proteica, menor acumulación de proteínas y asociándose con menores niveles circulantes y menor expresión tisular específica de diversos factores de crecimiento, como IGF-1 e IGF-II (91,106-108).

e) Enfermedades maternas durante la gestación:

El principal efecto de la hipertensión arterial, durante la gestación, es el marcado aumento de neonatos pequeños para la edad gestacional, además de bajo puntaje de Apgar a los 5 minutos, y aumento también de policitemia y enterocolitis necrotizante.

La hipertensión crónica, la inducida por el embarazo, la preeclampsia, trastornos vasculares, diabetes mellitus severa y enfermedades autoinmunes graves asociadas con anticoagulante lúpico limitan la invasión del trofoblasto, el crecimiento de la placenta, el flujo sanguíneo útero-placentario y la oxigenación y nutrición fetales (109).

La cardiopatía congénita cianótica materna puede limitar la oferta de oxígeno al feto lo que limita su crecimiento (110). La hipoxia asociada a grandes alturas también interfiere con el crecimiento fetal (111). Las crisis de anemia falciforme pueden provocar lesiones de los vasos sanguíneos uterinos, provocando alteraciones del crecimiento placentario y la capacidad de transporte de gases y nutrientes (112).

f) Tóxicos en el embarazo:

Los efectos específicos de las drogas sobre el crecimiento fetal son difíciles de discriminar porque suelen ser multiadictas, lo hacen en dosis distintas, con distintas mezclas y en diferentes períodos de vulnerabilidad fetal. Además estas mujeres con frecuencia sufren otros trastornos como desnutrición, enfermedades crónicas y/o agudas que conducen a alteración del crecimiento fetal (113). Se desconocen en qué momento de la gestación y cómo se producen los efectos específicos sobre el crecimiento fetal.

Parece que el alcohol interfiere el transporte de aminoácidos entre la placenta y el feto (114); la cocaína y el tabaquismo, factores más constantes asociados con disminución del crecimiento fetal, disminuyen la perfusión placentaria por vasoconstricción uterina y umbilical (115,116).

El monóxido de carbono, el cianuro y otras toxinas celulares pueden limitar el transporte de O^2 a los tejidos fetales e interferir la respiración celular.

g) Cuidados prenatales:

Su falta es un índice de deficiencia en las condiciones sociales, laborales, ambientales o de aceptación en torno a la gestación que favorecen el nacimiento de un neonato de BPEG.

Mientras en los países desarrollados con frecuencia se detectan factores responsables de neonatos de BPEG, en los países en vías de desarrollo en la mayoría de los casos no se consigue determinar la etiología; la carencia de medios para el diagnóstico precoz del bajo peso contribuye a empeorar el pronóstico (103,117).

Las características más frecuentes halladas en las madres con hijos BPEG fueron el bajo peso materno, la escasa ganancia ponderal durante el embarazo, el fumar y la baja altura fúndica media (88,118).

Si el resultado de la velocidad del flujo de la arteria umbilical y la frecuencia cardíaca del feto con BPEG son normales, no son precisas otras medidas; pero si están alteradas, está indicada la medición de la oxigenación y el balance ácido base, ya que la hipoxia y la acidosis aconsejan un parto lo más precoz posible. Dado que no hay terapia intraútero, el mejor tratamiento es el nacimiento cuando la valoración de la madurez/viabilidad del feto lo haga posible (119-121).

El feto depende fundamentalmente del flujo sanguíneo placentario para su crecimiento. Este flujo se ve regulado por la presión intrauterina; los cambios de contractilidad, los estrógenos, la indometacina y los beta adrenérgicos lo aumentan; mientras los alfa adrenérgicos y las prostaglandinas lo disminuyen. Las placentas de los BPEG son insuficientes por éstas y otras causas. Los estudios con velocimetría Doppler de los vasos sanguíneos uterinos, placentarios y fetales facilita datos precisos para el diagnóstico de alteraciones del flujo sanguíneo placentario y establecer un pronóstico fetal (122-125).

En las placentas de los BPEG hijos de hipertensas, las arterias uterinas y útero-placentarias presentan las mismas lesiones ultraestructurales, contenido en fibrina, infiltración lipídica y fibrosis, que en las lesiones ateromatosas y arterioescleróticas de la aorta y de las arterias cerebrales y coronarias humanas (126-128).

La etiología tiene que estar relacionada con la menor disponibilidad de proteínas, energía y diversos nutrientes; es decir, un fallo en la línea de aprovisionamiento.

Los tejidos más afectados son los de crecimiento más rápido, pues los de crecimiento lento han sido programados genéticamente para desarrollarse con menor necesidad de aporte (129).

Las variaciones del peso al nacer pueden ser atribuidas tan sólo parcialmente a factores genéticos, mientras que alteraciones del medio ambiente del feto juegan un papel primordial (130).

Estos recién nacidos tienen características especiales y tendencia a presentar problemas específicos en el período neonatal, como “distress” respiratorio, hipotermia, hipoglucemia, policitemia e hiperviscosidad, hipocalcemia, hipernatremia, alteraciones en la neoglucogénesis, retraso en el desarrollo esquelético, alta incidencia de asfixia en el parto, etc. Tienen un desarrollo neurológico más bajo, tienen retardo en el peso, menor estatura, circunferencia craneal y desarrollo óseo que los controles equiparables en edad gestacional

El retardo del crecimiento intrauterino es una importante causa de morbimortalidad perinatal, neonatal y posterior. Los neonatos de BPEG presentan más problemas de salud en general, más complejos y con mayor grado de afectación, que se atribuyen a la hipoplasia celular en época precoz de la vida intrauterina. Su estancia media de hospitalización es 2 veces más que la de los neonatos de peso adecuado (103,131-138).

En los BPEG las anomalías congénitas son más frecuentes, con una incidencia del 5 al 7 %, y ocupan el segundo lugar, después del prematuro, como causa de mortalidad perinatal, pues el BPEG tiene una tasa de mortalidad fetal elevada. Su mortalidad es superior a la de los niños nacidos con peso adecuado para su edad de gestación (103,139). Los prematuros de BPEG tienen significativamente más alto riesgo de morbilidad y mortalidad antes y después del nacimiento que los de peso adecuado para su edad de gestación (140,131,137).

Los BPEG tienen una menor cantidad de nitrógeno y proteínas en relación con el peso corporal, sobre todo debido a una deficiente producción de masa muscular. El contenido de tejido adiposo en estos neonatos al final del embarazo puede ser inferior al 10% del peso corporal y tienen también disminución del crecimiento óseo debido a una reducción de las concentraciones de osteocalcina y 1,25 dihidroxivitamina D (116,131,141,142).

En los neonatos BPEG hay una reducción significativa del contenido de glucógeno tanto en el hígado como en el músculo esquelético, por una menor concentración plasmática fetal de glucosa e insulina, factores principales que regulan la síntesis de glucógeno (143).

Los BPEG simétricos tienen más problemas a largo plazo que los de tipo disarmónico, al mostrar una reducción proporcional del número de células en todos los órganos y tejidos al grado de retraso. La composición de la placenta, pone en evidencia un descenso de DNA en los BPEG, que es mayor en los retrasos armónicos, debido a un menor número de células.

Este déficit da lugar a deficiencias que aparecerán más tarde, por ello el BPEG tiene menor potencial de desarrollo y supervivencia a lo largo de la vida. El incremento de la hipertensión, de las enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, la diabetes mellitus insulino dependiente, la esterilidad, dificultades en el SNC y afectación renal, se han asociado en la edad adulta a una historia de bajo peso al nacer (144 - 146), y puede haber persistente baja estatura en la infancia y edad adulta, sus dimensiones físicas como grupo están también afectadas y tienden a ser mas cortos de lo normal y con circunferencia cefálica menor.

Su menor Índice Ponderal indica que son más delgados, debido a menor grasa corporal y menor masa muscular, aunque la mayor parte de los BPEG muestran algún grado de recuperación (catch-up) del crecimiento durante el primer año de vida (132).

En los BPEG se han detectado diferencias histológicas y funcionales, por ejemplo: en la placenta se observó un aumento de la síntesis proteica, de la capacidad de aromatización y del empleo de glucógeno, pero también, disminución del consumo de oxígeno. Se halló aumento de la actividad de la ARN polimerasa y del contenido de ARN. La disminución del nitrógeno y del ADN es compatible con la disminución del número de células en el órgano (147-153).

En algunos BPEG la composición de la mielina cerebral es anómala y la celularidad de zonas del cerebro está disminuida. Las alteraciones bioquímicas halladas en el cerebro de los BPEG comprenden disminución de cerebrosido-sulfato; de la actividad de la enzima galactolípido sulfotrasferasa, componentes imprescindibles para la formación de mielina; y también de los mucopolisacáridos; del ácido hialurónico; del condroitín sulfato y del sulfato de heparina (154,155). Quizás ello explicaría las secuelas neurológicas e intelectuales de los BPEG descritas por Fitzhardinge (156,157).

El aumento del nivel sanguíneo de los productos del nitrógeno sérico, (amoníaco, urea y ácido úrico), reflejaría una disminución de las reservas calóricas y un estado proteico catabólico en el BPEG (158,159).

Hay comunicaciones de alteraciones en los niveles de proteínas séricas, con proteínas totales, prealbúmina e IgG bajas (160 - 163).

Estos neonatos también presentan alteraciones en el consumo de O^2 . Su alta tasa metabólica podría deberse a un desequilibrio entre los órganos con alto consumo de O^2 , cerebro fundamentalmente, poco reducido en los BPEG, y los de menor consumo como el timo, el bazo y el hígado, cuyos pesos se reducen más (174-176).

En los BPEG los niveles de TSH son más elevados y los de T4 y T4 libre más bajos que en los recién nacidos de peso adecuado. El hipotiroidismo materno mal controlado aumenta la incidencia de abortos en el primer trimestre y de BPEG en los recién nacidos.

Aproximadamente, el 10% de los hijos de mujeres con enfermedad de Graves son BPEG, especialmente si la tirotóxicosis estuvo presente más de 3 semanas en el curso de la gestación o si los niveles maternos de TSI estaban elevados en el momento del parto, la enfermedad de Graves duró 10 o más años o comenzó antes de los 10 años de edad (177, 178).

Las mujeres que fueron BPEG tuvieron mayor riesgo de dar a luz descendencia prematura o BPEG; sin embargo, las mujeres que nacieron prematuramente no tuvieron mayor riesgo de tener hijos prematuros o BPEG (179).

Se ha observado reducción de la inmunocompetencia humoral y celular. La inmunidad celular en neonatos con crecimiento intrauterino retardado fue documentada por primera vez por Ferguson y cols mediante el estudio de la formación total de E-rosetas, que fue significativamente menor en los BPEG que en los neonatos de peso apropiado para la edad gestacional (164-170).

La asociación de malnutrición proteico-calórica con atrofia de los tejidos timolinfáticos fue descrita por primera vez por Jackson en 1.925 (171).

Estudios posteriores han demostrado que la malnutrición da lugar a múltiples defectos de la función inmunológica. Los niños con malnutrición tienen incrementada la susceptibilidad a las infecciones graves, fúngicas, vírales y a gram negativos, y tienen disminuida la hipersensibilidad cutánea, la formación de E-rosetas linfocitarias en sangre periférica y la proliferación linfocitaria en respuesta a los mitógenos "in vitro". En contraposición, las inmunoglobulinas séricas y los niveles de anticuerpos son normales o aumentados, sugiriendo que la malnutrición afecta primariamente a la disminución de la inmunidad celular (172).

El descubrimiento del daño prolongado de la inmunidad celular es de gran importancia, ya que ello puede explicar la susceptibilidad aumentada a las infecciones que ocurre en los BPEG (133,135,173) y, en etapas lejanas, en el incremento del riesgo de alergias, enfermedades autoinmunes y cambios neoplásicos (172) y puede explicar, en parte, la inadecuada respuesta a la inmunización (165).

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Los recién nacidos de bajo peso para la edad gestacional (BPEG) son un grupo específico de neonatos con características particulares e identidad de grupo y tienen claras diferencias, obstétricas, somáticas y en la patología que presentan precoz y tardíamente, con los de peso adecuado para la edad de gestación (PAEG) (180,181). Esta identidad de grupo no debe ocultar la heterogeneidad de los neonatos de BPEG.

La etiología del BPEG es multifactorial y actúa al mismo tiempo que se desarrollan los órganos involucrados en la inmunidad (130). Se describen en este grupo de niños alteraciones bioquímicas, metabólicas, proteicas, constitucionales etc. incluso inmunológicas (116,141,165,169). Presentan aumento de la mortalidad y morbilidad fetal, perinatal, neonatal y tardía, motivado por un período gestacional alterado (120,132-135).

Parece que el crecimiento intrauterino retardado puede afectar “per se” el desarrollo de las poblaciones linfocitarias (166,169,170). Si se tiene en cuenta que la maduración y expansión del sistema inmunitario se realiza desde fases muy precoces de la gestación, órganos vitales para su desarrollo pueden afectarse alterando la inmunidad (165-167).

Hipótesis:

Los recién nacidos de bajo peso para la edad de gestación (BPEG), pueden tener una inmunidad diferente de los recién nacidos de peso adecuado para la edad de gestación (PAEG).

Objetivos:

- 1 - Conocer el estado de la inmunidad celular en una población de neonatos de BPEG, sin patología asociada.**
- 2 - Detectar diferencias en la inmunidad celular entre recién nacidos a término BPEG y, recién nacidos a término de PAEG.**
- 3 - Determinar si existen variables clínicas, que puedan estar asociadas con las características de la inmunidad de los recién nacidos BPEG.**

3. MATERIAL Y MÉTODO

3.1 población objeto del estudio

Se estudiaron de manera prospectiva recién nacidos a término de bajo peso para la edad de gestación (BPEG) – casos – y recién nacidos a término de peso adecuado para la edad de gestación (PAEG) – controles - según la clasificación de Lubchenko (180,181), nacidos en el Hospital Universitario “Joan XXIII” de Tarragona entre los años 1.993 y 2.001.

Los neonatos tenían exploración física normal y carecían de antecedentes patológicos familiares, gestacionales y perinatales.

Se recogieron datos clínicos relativos al neonato, historia familiar, características de la gestación, controles analíticos y de imagen realizadas durante la misma, incluyendo factores maternos y del nacimiento que pudieran influir y diferenciar los resultados.

3.1.1 criterios de inclusión.

Se incluyeron recién nacidos a término, nacidos entre las 38 y 41 semanas de gestación, fruto de una gestación normal, controlada según el protocolo de la Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología, SEGO, (182) y el programa de seguimiento del embarazo del departamento de salud de la Generalitat de Catalunya (183), que tuvieron un período prenatal, parto y periodo neonatal inmediato normales, en los cuales la amniorrexis, características del líquido amniótico, test de Apgar y exploración física fueran normales.

3.1.2 criterios de exclusión.

Se descartaron los neonatos hijos de madres con patología de base o durante la gestación, eclampsia o preeclampsia, hipertensión arterial, los que recibieron transfusiones o antibioterapia, los que presentaron una gestación complicada, amniorrexis más de 12 horas antes del parto, o fueron cesáreas por sufrimiento fetal, así como los afectados de malformaciones somáticas, cromosómicas, asfixia intraparto, test de Apgar al 1^{er} y 5^o minutos inferiores a 7 y 9 respectivamente y los que tuvieron infecciones intraútero, TORCHS, HB, HC, VIH, clínica de corioamnionitis o cultivo materno para estreptococo agalactiae positivo. También se excluyeron los neonatos cuyas madres tuvieron una infección reciente (184-186).

Se excluyeron los recién nacidos frutos de cesáreas motivadas por pérdida del bienestar fetal, y los hijos de madres que recibieron tratamiento con prostaglandinas o con esteroides antenatalmente.

Se descartaron aquellos recién nacidos con antecedentes familiares de enfermedades inmunitarias o hematológicas, así como de malformaciones, también los que sus progenitores siguieran tratamiento antiviral o con citostaticos.

Se excluyeron neonatos con la posibilidad de deficiencias carenciales nutritivas, en especial hipovitaminosis. No se recogieron muestras de neonatos que tuvieron enfermedad hemolítica o trasfusión intrauterina, Por ello tampoco se utilizaron muestras de neonatos con incompatibilidad ABO, Rh ni de aquellos neonatos con transfusión feto fetal o materno fetal. Se excluyeron los neonatos con pruebas de estres patológicas durante la gestación, asi como los hijos de madres preeclampsicas.

3.2 citometría de flujo

Para la cuantificación linfocitaria, se utilizó el citómetro de flujo FACScan de Becton – Dickinson. Estos equipos realizan un recuento muy fiable, de forma semiautomática (FACScan de Becton - Dickinson) a partir de sangre total. Es un método contrastado tanto en la clínica como en la investigación (198- 200).

Su empleo para la determinación de las poblaciones linfocitarias, se basa en la identificación de antígenos mediante anticuerpos monoclonales, AcMo, (254) marcados con fluorocromos. Las técnicas empleadas para inducir la producción de anticuerpos, representan la elaboración de anticuerpos con especificidad única (201).

La citometría de flujo permite la determinación de los antígenos de superficie linfocitaria, con pequeños volúmenes de sangre.

3.3 protocolo de estudio

Se eligió recoger las muestras en sangre de cordón umbilical porque este representa un modelo ideal para el estudio de la inmunidad, mediante la respuesta a los mitógenos, la cuantificación y porcentaje de los linfocitos B, número total, porcentaje y diferenciación de células T y el que no varían los resultados en las muestras obtenidas a lo largo de la 1ª semana de vida (202-205), además, esta sangre está exenta de influencias inmunológicas externas.

Se obtuvieron las muestras del cordón umbilical precozmente tras el parto, 1 cc de sangre venosa que se depositó en un tubo Venoyet, estéril, con 7.5% de EDTA (K3), manteniéndolo a temperatura ambiente.

Partes alícuotas de 100 µl, se incubaron durante 10 minutos en temperatura ambiente y en la oscuridad con 20 µl de fluorocromo conjugado con los anticuerpos monoclonales (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA®), mientras se agitaba la muestra. Tras la incubación, se procede al lisado de los glóbulos rojos utilizando FACS Lysing Solution® (Becton Dickinson) diluida al 10% con agua destilada, seguido de 3 minutos de incubación en la oscuridad. Se centrifugó durante 5 minutos a 1200 rpm y posterior decantación, mezclado con 2 cc de PBS y mezclado (borex), centrifugando 5 minutos a 1200 rpm, después se procede a decantar y suspender en 1cc de PBS.

El análisis se realizó con FACScan flow cytometer (Becton Dickinson), que había sido calibrado con CaliBRITE globular y AutoCOMP Software® (Becton Dickinson).

Se procedió a la cuantificación linfocitaria en un citómetro de flujo FACScan (Becton Dickinson), que utiliza como fuente de luz un láser de argón.

El conteo total de células blancas se hizo con un Coulter STKS, contador de células, obteniéndose el porcentaje de linfocitos de forma manual.

El inmunofenotipaje con isotiocinato de fluoresceína y ficoeritrina, se efectuó para determinar los siguientes subgrupos linfocitarios: CD3 (total linfocitos T), CD9 y CD10 (total linfocitos B -CD19-), CD4 y CD8 (Supresor/Citotóxico -CD8- linfocitos y Helper/Inductor/-CD4-linfocitos), CD57 Natural Killer (14).

La nomenclatura CD usada para los subgrupos es la recomendada por el World Health Organization (WHO) (206, 207).

3.4 variables del estudio

Para cada paciente se registraron los siguientes datos:

3.4.1 variables primarias/originales.

- Edad materna en años.
- Número de la gestación actual.
- Edad gestacional en semanas calculada por la fecha última regla.
- Tipo de parto. Vaginal vs cesárea.
- Test de Apgar al minuto y a los cinco minutos.
- Sexo del recién nacido. Varón vs mujer.
- Peso del recién nacido en gramos.
- Asignación al grupo PAEG o BPEG, según las tablas somatométricas de Colorado (181).
- Peso de la placenta en gramos.
- Grupo sanguíneo y Rh de la madre y del recién nacido.
Grupo ABO (globular y sérico), Rh (D).
- Coombs indirecto y directo.

Test de Coombs indirecto: Escrutinio de anticuerpos irregulares eritrocitarios mediante panel de 3 células (Serascan Diana 3).

Si el Test de Coombs indirecto era positivo se realizó una identificación mediante un panel de 11 células (Identisera Diana).

Test de Coombs directo: Escrutinio de anticuerpos irregulares eritrocitarios mediante panel de 3 células (Serascan Diana 3).

Si el test de Coombs directo era positivo se realizó la elución del anticuerpo, por el método ácido, con el reactivo comercial Elu-kit II.

Las determinaciones se hicieron en tarjetas de gel, por técnica de aglutinación en columna mediante equipo automático modelo WADiana Compact.

- Número total de leucocitos, linfocitos, linfocitos T y linfocitos B.
- Número total de linfocitos supresores (CD8) y de linfocitos helper (CD4).
- Cuantificación de células Natural Killer (NK).

3.4.2 variables calculadas.

- Porcentaje de linfocitos en relación al total de leucocitos.
- Porcentaje de linfocitos T y de linfocitos B en relación a los linfocitos totales.
- Porcentaje de linfocitos Helper (CD4) y linfocitos supresores (CD8) con relación a los linfocitos T.
- Índice CD4/CD8
- Cociente entre el peso de la placenta y el peso del RN, ambos expresados en gramos, que habitualmente se conoce como porcentaje de la placenta con relación al neonato.

3.5 análisis estadístico

El tamaño muestral se determino en base a los estudios de Le Caer F y cols (69), cuyos valores inmunológicos de normalidad se asemejan a nuestra población, y se optó por una proporción de 2 a 1 entre casos y controles, para aumentar la precisión de los estimadores del grupo de bajo peso. Para detectar una variación del 20% en el valor medio de cualquiera de las variables, medidas en un test no paramétrico con una potencia del 80% y un error α del 5%, se necesitaban un mínimo de 70 casos estudio y 35 controles. Ello sin perjuicio de aumentar el número de casos estudio, si el reclutamiento fuera más fácil de lo previsible.

Dicho tamaño muestral se determinó con el programa NCSS 2000 & PASS 2000 (208). Este mismo programa se utilizó para determinar la potencia estadística alcanzada.

Con los datos primarios recogidos se creó una base de datos informatizada, con el programa dBase IV, para su ulterior proceso estadístico. Las variables calculadas se generaron durante la fase de análisis estadístico.

Para analizar la asociación entre dos variables cualitativas, se utilizo el test de Ji cuadrado, o el test de la probabilidad exacta de Fisher, cuando no se cumplían las condiciones de aplicación del primero.

La asunción de normalidad de la distribución de las variables continuas, se estudio mediante el test de Kolmogorov-Smirnov.

Como muchas de las variables del estudio no siguen una distribución normal, para estudiar la asociación entre dos variables continuas, se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman y la asociación entre una variable continua y otra dicotómica, mediante la prueba de la "U" de Mann-Whitney.

Los análisis estadísticos se ha realizado con los programas SPSS v. 10.0 (231) y NCSS 2000 & PASS 2000 (208).

Todos los test corresponden a pruebas bilaterales, y el nivel de significación se ha fijado al de una $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Se estudiaron un total de 117 recién nacidos a término que se clasificaron según la curva de crecimiento intrauterino de L. Lubchenko, aceptada por la Academia Americana de Pediatría (180,181). De estos 82 neonatos fueron de bajo peso para la edad gestacional (BPEG - grupo de estudio) y 35 neonatos de peso adecuado para la edad gestacional (PAEG - grupo control). Las características clínicas de los dos grupos, neonatos de BPEG, grupo de estudio, y recién nacidos de PAEG, grupo control se muestran en la **tabla 1**.

El 47,6% de los BPEG fueron varones, nacieron por parto vaginal el 62,2% tras una gestación de $38,8 \pm 1,3$ (38,4) [media \pm DE (mediana)] semanas y con un peso de $2.105,2 \pm 304,3$ (2.117,5) gramos.

El 51,4% (18) de los PAEG fueron varones, el parto fue vaginal en el 82,9% (29), tras una gestación de $39,2 \pm 1,3$ (39) semanas y un peso de $3.006,7 \pm 542,8$ (3.160) gramos.

Los neonatos de BPEG nacidos por cesárea fueron el 37,8%, más del doble que en los neonatos de PAEG cuyo porcentaje fue del 17,1% ($p < 0,031$).

Los BPEG se asociaron con un número menor, estadísticamente significativo, de gestaciones previas, $1,9 \pm 1,1$ vs $2,3 \pm 1,4$ de los PAEG [media \pm DE] ($p = 0,05$).

El test de Apgar al minuto fue inferior en los BPEG, $8,3 \pm 1,2$ vs $8,8 \pm 0,5$ en los recién nacidos de PAEG ($p < 0,009$).

También el peso en gramos fue menor en los BPEG, $2.105,2 \pm 304,3$ (2.117,5), vs $3.006,7 \pm 542,8$ (3.160) en los PAEG ($p < 0,001$).

En conjunto, BPEG y PAEG, los nacidos por cesárea eran hijos de madres de más edad (4 años) y también tenían menos peso (300 g).

Entre los BPEG y los PAEG, no hubo diferencias en cuanto a sexo, cociente del peso de la placenta respecto al peso del neonato, test de Apgar a los 5 minutos, edad materna y edad gestacional.

Entre ambos grupos, BPEG y PAEG, no hubo diferencias en cuanto a incompatibilidad de grupo sanguíneo, ni de Rh materno-fetal.

Tabla 1.
 Diferencias entre las variables clínicas de los grupos de estudio.

Variables clínicas	BPEG N=82 N (%)	PAEG N=35 N (%)	P ¹
Sexo:			
Varones	39 (47,6 %)	18 (51,4 %)	0,840
Mujeres	43 (52,4 %)	17 (48,6 %)	
Tipo de parto:			
Vaginal	51 (62,2 %)	29 (82,9 %)	0,031
Cesárea	31 (37,8 %)	6 (17,1 %)	
	Media ± DE (Mediana)	Media ± DE (Mediana)	P ²
Edad materna en años	27,8 ± 4,9 (27,5)	27,8 ± 4,8 (28,2)	0,952
Número de gestación	1,9 ± 1,1 (2,0)	2,3 ± 1,4 (2,0)	0,050
Edad gestacional (semanas)	38,8 ± 1,3 (38,4)	39,2 ± 1,3 (39,3)	0,123
Apgar al minuto	8,3 ± 1,2 (9,1)	8,8 ± 0,5 (9,3)	0,009
Apgar a los 5 minutos	9,6 ± 0,6 (10)	9,7 ± 0,6 (10)	0,153
Peso (g)	2.105,2 ± 304,3 (2.117,5)	3.006,7 ± 542,8 (3.160,2)	<0,001
Peso placenta /peso recién nacido [∞]	19,6 ± 4,0 (18,7)	19,2 ± 2,8 (19,7)	0,835

¹ Test de Fisher.

² U de Mann-Whitney.

[∞] cociente expresado en forma de porcentaje.

La **tabla 2** muestra la potencia estadística alcanzada en nuestro estudio.

Se aprecia que para detectar una diferencia mínima del 20%, en los parámetros inmunológicos entre los dos grupos de neonatos, BPEG y PAEG, la potencia ha sido inferior al 80% en el caso de las variables CD4, CD8, CD4/CD8 y NK.

En cambio, si se ha alcanzado esta potencia estadística en las variables porcentaje de linfocitos, linfocitos T/mm³ y porcentaje (%) de linfocitos T, porcentaje de linfocitos CD4 y porcentaje de linfocitos CD8.

Tabla 2.
 Potencia estadística alcanzada por el estudio, en los parámetros inmunológicos.

Variables inmunológicas	PAEG (N=35) Media ± DE*	BPEG (N=82) DE*	Diferencia a detectar [†]	Potencia [§]
Linfocitos [∞]	34,6 ± 9,6	11,1	6,9	0,902
Linfocitos T [⊕]	3.565,4 ± 1.173,5	1.259,8	713,1	0,805
Linfocitos T [∞]	68,3 ± 11,9	14,2	13,7	0,999
CD4 [⊕]	2.654,9 ± 936,9	1.015,5	531,0	0,746
CD4 [∞]	50,8 ± 11,3	13,3	10,2	0,982
CD8 [⊕]	1.303,4 ± 550,6	627,6	260,7	0,577
CD8 [∞]	24,6 ± 6,0	8,4	4,9	0,929
CD4/CD8	2,18 ± 0,75	0,9	0,4	0,746
NK [⊕]	17,2 ± 26,4	23,6	3,4	0,096

* valores observados.

[†] 20% de la media del grupo PAEG.

[§] para un test de la U de Mann-Whitney.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

Los resultados del estudio de las variables inmunológicas se muestran en la **tabla 3**.

En los recién nacidos BPEG se encontraron menos leucocitos totales, leucocitos/mm³, 12.143 ± 1.587 (11.100) [media \pm DS (mediana)] vs 15.709 ± 4.428 (14.800) en los neonatos de PAEG, diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$). Esta diferencia se confirma también por la diferencia mediana, de manera que los neonatos BPEG tienen 3.700 leucocitos/mm³ menos que los neonatos PAEG, con un intervalo de confianza (IC) del 95% entre 1.900 y 5.300 leucocitos/mm³.

También el número de linfocitos totales fue significativamente ($p = 0,010$) menor, 4.402 ± 4.562 (4.072) en los neonatos BPEG vs 5.270 ± 1.665 (4.629) en los de PAEG, una diferencia mediana de 799,5 con un IC95% de 196,0 a 1.445,9 leucocitos/mm³.

El recuento de los linfocitos B, en los recién nacidos de BPEG, fueron menos en número, casi la mitad, 420 ± 286 (350) que en los neonatos de PAEG, 809 ± 659 (510), $p < 0,001$, diferencia mediana de 210 e intervalo de confianza del 95% de 99,9 a 350.

Así mismo, el porcentaje (%) de linfocitos B fue significativamente ($p = 0,002$) menor en los neonatos BPEG 9.6 ± 5.4 (8) vs 14.8 ± 9.1 (12) en los PAEG, con una diferencia mediana de 3,1 e intervalo de confianza del 95% de 1,1 a 6,0.

Los linfocitos T también estaban disminuidos en el grupo de BPEG, con una diferencia mediana de 480, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,090$).

No hallamos diferencias significativas en el resto de las variables inmunitarias analizadas.

Tabla 3.
 Recuento leucocitario según grupos de estudio.

Variables inmunológicas	BPEG (N=82) Media ± DE (Mediana)	PAEG (N=35) Media ± DE (Mediana)	P*	Diferencia Mediana [□]	IC 95%
Leucocitos [⊕]	12.142,7 ± 1.587,1 (11.100,0)	15.708,6 ± 4.427,8 (14.800,0)	<0,001	3.700	1.900 – 5.300
Linfocitos [⊕]	4.402,3 ± 4.562,6 (4.072,5)	5.269,7 ± 1.665,5 (4.629,0)	0,010	799,5	196,0 – 1.445,9
Linfocitos [∞]	38,0 ± 11,1 (37,4)	34,6 ± 9,6 (32,7)	0,071	-3,3	-7,6 – 0,3
Linfocitos T [⊕]	3.135,1 ± 1.259,8 (3.030,0)	3.565,4 ± 1.173,5 (3.220,0)	0,096	480,0	-69,8 – 930,0
Linfocitos T [∞]	71,3 ± 14,2 (73,9)	68,3 ± 11,9 (72,0)	0,109	-3,8	-8,0 – 1,0
CD4 [⊕]	2.372,8 ± 1.015,5 (2.120,0)	2.654,9 ± 936,9 (2.550,0)	0,129	310,0	-80,1 – 699,9
CD4 [∞]	53,8 ± 13,3 (53,0)	50,8 ± 11,3 (51,9)	0,194	-3,1	-8,8 – 1,1
CD8 [⊕]	1.164,6 ± 627,6 (1.075,0)	1.303,4 ± 550,6 (1.180,0)	0,140	150,0	-50,0 – 359,9
CD8 [∞]	25,8 ± 8,4 (26,1)	24,6 ± 6,0 (23,9)	0,382	-1,7	-4,9 – 1,8
CD4/CD8	2,29 ± 0,90 (1,99)	2,18 ± 0,75 (2,01)	0,854	-0,03	-0,33 – 0,24
Linfocitos B [⊕]	420,0 ± 285,6 (350,2)	808,6 ± 658,7 (510,4)	<0,001	210	99,9 – 350
Linfocitos B [∞]	9,6 ± 5,4 (8,1)	14,8 ± 9,1 (12,0)	0,002	3,1	1,1 – 6,0
NK [⊕]	11,5 ± 23,6 (0,0)	17,2 ± 26,4 (0,0)	0,278	0,0	0,0 – 0,0

La diferencia mediana e IC 95% son las diferencias inmunológicas del grupo PAEG con relación al BPEG.

* U de Mann – Whitney.

□ estimación no paramétrica.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

Las asociaciones de las variables clínicas, con las variables inmunológicas del estudio se muestran en las **tablas 4,5,6**:

En los neonatos de BPEG, la mayor **edad en la maternidad** se acompañaba de una disminución de los leucocitos ($p=0,005$), linfocitos ($p=0,023$) y CD8 totales ($p=0,015$) e incremento de la ratio CD4/CD8 (**Tabla 4**). Esta misma variable clínica en los PAEG solo se acompaña de disminución de los linfocitos CD8 totales ($p=0,053$) y de su porcentaje ($p=0,031$) (**Tabla 5**). En ambos grupos, cuando aumentaba la edad materna, hallabamos disminuidos los leucocitos, linfocitos y linfocitos CD8 totales y aumentada la ratio CD4/CD8 (**Tabla 6**).

Un aumento del **número de gestación** se asociaba a una disminución del número de leucocitos ($p=0,039$), linfocitos totales ($p=0,012$) y linfocitos CD8 totales ($p=0,043$) y aumentaba la ratio CD4/CD8 (0,028) y el porcentaje de linfocitos CD4 en los neonatos BPEG (**Tabla 4**).

En los PAEG, cuando aumentaba el número de gestación estaban disminuidos los linfocitos CD8 totales (**Tabla 5**).

En conjunto, BPEG y PAEG, disminuían los linfocitos totales y CD8, aumentaba el cociente CD4/CD8 (**Tabla 6**).

No encontramos asociaciones entre la **edad de gestación** y los parámetros inmunológicos en los neonatos BPEG (**Tabla 4**), pero sí, en los de PAEG (**Tabla 5**) en quienes la mayor edad gestacional se asociaba a mayor número de leucocitos ($p=0,008$) y de células NK ($p=0,015$) y en el conjunto, BPEG y PAEG, se incrementaban los leucocitos (**Tabla 6**).

En cuanto al **peso al nacer** y su asociación con las variables inmunológicas en los neonatos BPEG no hallamos asociaciones significativas (**Tabla 4**), aunque sí, en los de PAEG, en los que, a mayor peso del neonato, menor porcentaje de linfocitos sobre leucocitos ($p=0,04$) y más células NK ($p=0,01$) (**Tabla 5**). En ambos grupos sin desagregar se incrementaban los leucocitos, linfocitos y linfocitos B totales, también el porcentaje de linfocitos B a mayor peso (**Tabla 6**).

El **peso de la placenta** no se asocia a variaciones en los valores inmunológicos de los BPEG (**Tabla 4**), pero en los de peso adecuado, a mayor peso placentario más células NK ($p=0,001$) (**Tabla 5**), y en el conjunto de neonatos cuando aumentaba el peso de la placenta, aumentaban los leucocitos y células NK totales y los linfocitos B totales y porcentaje (**Tabla 6**).

Edad de gestación, peso del recién nacido y peso de la placenta están directamente relacionados entre sí, y las tres variables estaban asociadas a incremento de las células NK.

Los valores de los **test de Apgar**, al minuto y cinco minutos, no se correlacionaban con variaciones en las variables inmunológicas, en ninguno de los dos grupos por separado, ni en conjunto (**Tablas 4,5,6**).

Tabla 4.
 Correlaciones entre variables clínicas e inmunológicas en el grupo BPEG.

Variabes	Edad materna $\rho/(P)$	Número gestación $\rho/(P)$	Edad de gestación $\rho/(P)$	Peso al nacer/g $\rho/(P)$	Peso de placenta/g $\rho/(P)$	Apgar al minuto $\rho/(P)$	Apgar al 5º minuto $\rho/(P)$
Leucocitos [⊕]	-0,308 (0,005)	-0,229 (0,039)	0,035 (0,753)	0,127 (0,256)	0,055 (0,625)	-0,020 (0,858)	-0,099 (0,378)
Linfocitos [⊕]	-0,251 (0,023)	-0,276 (0,012)	0,019 (0,868)	0,086 (0,443)	-0,048 (0,668)	0,033 (0,772)	-0,012 (0,915)
Linfocitos T [⊕]	-0,124 (0,265)	-0,184 (0,097)	0,013 (0,905)	0,109 (0,330)	0,016 (0,884)	0,010 (0,929)	-0,049 (0,659)
Linfocitos B [⊕]	-0,183 (0,099)	-0,120 (0,283)	0,001 (0,998)	0,110 (0,324)	0,026 (0,818)	-0,092 (0,414)	-0,092 (0,390)
Linfocitos CD8 [⊕]	-0,267 (0,015)	-0,224 (0,043)	0,063 (0,575)	0,140 (0,211)	-0,036 (0,749)	0,070 (0,533)	0,034 (0,762)
Linfocitos CD4 [⊕]	-0,104 (0,353)	-0,117 (0,293)	0,031 (0,786)	0,154 (0,167)	0,049 (0,663)	-0,017 (0,881)	-0,068 (0,541)
Linfocitos /Leucocitos [∞]	0,085 (0,446)	-0,051 (0,652)	0,039 (0,728)	-0,038 (0,734)	-0,070 (0,535)	0,047 (0,673)	0,077 (0,493)
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	0,170 (0,127)	0,123 (0,272)	-0,022 (0,847)	0,038 (0,735)	0,090 (0,423)	-0,012 (0,916)	-0,049 (0,664)
LinfocitosB /Linfocitos [∞]	-0,054 (0,631)	0,032 (0,776)	-0,039 (0,727)	0,078 (0,487)	0,149 (0,183)	-0,097 (0,386)	-0,095 (0,394)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	-0,131 (0,241)	-0,109 (0,329)	0,010 (0,931)	0,104 (0,354)	-0,031 (0,780)	0,175 (0,115)	0,137 (0,220)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	0,176 (0,114)	0,242 (0,028)	0,084 (0,453)	0,140 (0,208)	0,148 (0,183)	-0,060 (0,592)	-0,139 (0,213)
Cociente CD4/CD8	0,256 (0,020)	0,243 (0,028)	0,042 (0,708)	0,051 (0,646)	0,177 (0,112)	-0,136 (0,222)	-0,158 (0,156)
Total células NK [⊕]	-0,045 (0,685)	-0,089 (0,426)	-0,040 (0,723)	0,007 (0,951)	0,133 (0,234)	0,022 (0,843)	-0,053 (0,634)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.
 ⊕ células por mm³.
 ∞ cociente.

Tabla 5.
 Correlaciones entre variables clínicas e inmunológicas en el grupo PAEG.

Variables	Edad materna ρ /(P)	Número gestación ρ /(P)	Edad de gestación ρ /(P)	Peso al nacer/g ρ /(P)	Peso de placenta/g ρ /(P)	Apgar al minuto ρ /(P)	Apgar al 5º minuto ρ /(P)
Leucocitos [⊕]	-0,260 (0,132)	-0,121 (0,487)	0,441 (0,008)	0,265 (0,124)	0,260 (0,132)	0,336 (0,149)	-0,040 (0,818)
Linfocitos [⊕]	-0,187 (0,282)	-0,232 (0,181)	0,136 (0,436)	-0,087 (0,621)	-0,013 (0,941)	0,032 (0,854)	-0,057 (0,743)
Linfocitos T [⊕]	-0,157 (0,367)	-0,213 (0,219)	0,139 (0,425)	-0,111 (0,526)	-0,031 (0,861)	0,164 (0,346)	0,010 (0,954)
Linfocitos B [⊕]	0,096 (0,585)	-0,013 (0,939)	0,080 (0,646)	-0,036 (0,837)	0,080 (0,647)	-0,222 (0,199)	-0,103 (0,556)
Linfocitos CD8 [⊕]	-0,329 (0,053)	-0,384 (0,023)	0,126 (0,471)	-0,120 (0,493)	-0,078 (0,656)	0,107 (0,542)	-0,001 (0,995)
Linfocitos CD4 [⊕]	-0,100 (0,569)	-0,198 (0,254)	0,129 (0,461)	-0,129 (0,460)	-0,080 (0,647)	0,123 (0,480)	0,061 (0,729)
Linfocitos /Leucocitos [∞]	-0,039 (0,822)	-0,186 (0,284)	-0,232 (0,180)	-0,348 (0,040)	-0,309 (0,071)	-0,119 (0,495)	0,125 (0,476)
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	0,126 (0,469)	-0,074 (0,671)	0,019 (0,913)	0,022 (0,901)	0,019 (0,915)	0,158 (0,363)	0,033 (0,849)
LinfocitosB /Linfocitos [∞]	0,258 (0,134)	0,151 (0,388)	-0,058 (0,743)	0,004 (0,981)	0,120 (0,492)	-0,340 (0,056)	-0,154 (0,378)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	-0,364 (0,031)	-0,307 (0,073)	0,005 (0,978)	-0,065 (0,711)	-0,170 (0,329)	0,219 (0,207)	0,212 (0,223)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	0,102 (0,561)	-0,117 (0,504)	-0,023 (0,897)	-0,088 (0,615)	-0,072 (0,681)	0,032 (0,856)	-0,026 (0,881)
Cociente CD4/CD8	0,257 (0,110)	0,174 (0,317)	-0,126 (0,471)	-0,043 (0,808)	0,037 (0,833)	-0,180 (0,301)	-0,174 (0,317)
Total células NK [⊕]	0,062 (0,724)	-0,201 (0,248)	0,408 (0,015)	0,432 (0,010)	0,538 (0,001)	-0,088 (0,616)	-0,330 (0,053)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.
 ⊕ células por mm³.
 ∞ cociente.

Tabla 6.
 Correlaciones entre variables clínicas e inmunológicas. En conjunto BPEG/PAEG.

Variabes	Edad materna $\rho/(P)$	Número gestación $\rho/(P)$	Edad de gestación $\rho/(P)$	Peso al nacer/ g $\rho/(P)$	Peso de placent/g $\rho/(P)$	Apgar al minuto $\rho/(P)$	Apgar al 5º minuto $\rho/(P)$
Leucocitos [⊕]	-0,286 (0,002)	-0,106 (0,257)	0,203 (0,028)	0,353 ($<0,001$)	0,269 (0,003)	0,123 (0,185)	-0,021 (0,824)
Linfocitos [⊕]	-0,227 (0,014)	-0,206 (0,026)	0,093 (0,318)	0,195 (0,035)	0,077 (0,408)	0,092 (0,322)	0,024 (0,796)
Linfocitos T [⊕]	-0,140 (0,132)	-0,167 (0,072)	0,088 (0,347)	0,144 (0,122)	0,074 (0,427)	0,078 (0,405)	0,003 (0,979)
Linfocitos B [⊕]	-0,091 (0,331)	-0,008 (0,931)	0,084 (0,366)	0,319 ($<0,001$)	0,234 (0,011)	-0,015 (0,872)	-0,048 (0,609)
Linfocitos CD8 [⊕]	-0,276 (0,003)	-0,238 (0,010)	0,111 (0,234)	0,142 (0,128)	0,010 (0,916)	0,156 (0,256)	0,049 (0,600)
Linfocitos CD4 [⊕]	-0,111 (0,234)	-0,119 (0,200)	0,084 (0,367)	0,156 (0,096)	0,074 (0,428)	0,039 (0,676)	-0,020 (0,830)
Linfocitos /Leucocitos [∞]	0,078 (0,416)	-0,114 (0,223)	-0,052 (0,581)	-0,182 (0,049)	-0,188 (0,043)	-0,059 (0,527)	0,046 (0,625)
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	0,164 (0,077)	0,042 (0,657)	-0,031 (0,739)	-0,091 (0,330)	-0,032 (0,734)	-0,015 (0,870)	-0,046 (0,625)
LinfocitosB /Linfocitos [∞]	0,038 (0,687)	0,113 (0,226)	0,021 (0,825)	0,251 (0,006)	0,264 (0,004)	-0,049 (0,599)	-0,058 (0,535)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	-0,180 (0,052)	-0,167 (0,072)	0,007 (0,940)	-0,027 (0,774)	-0,102 (0,273)	0,159 (0,087)	0,141 (0,128)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	0,155 (0,096)	0,113 (0,225)	0,035 (0,709)	-0,019 (0,837)	0,006 (0,948)	-0,066 (0,481)	-0,117 (0,208)
Cociente CD4/CD8	0,255 (0,005)	0,214 (0,020)	-0,003 (0,977)	0,025 (0,788)	0,110 (0,238)	-0,150 (0,107)	-0,169 (0,068)
Total células NK [⊕]	-0,009 (0,922)	-0,097 (0,296)	0,099 (0,288)	0,132 (0,156)	0,252 (0,006)	0,019 (0,836)	-0,114 (0,222)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.
 ⊕ células por mm³.
 ∞ cociente.

Las **variables inmunológicas** tenían múltiples asociaciones entre ellas, en su estudio hallamos que:

Los **leucocitos/mm³** es una variable que se asociaba a variaciones en los neonatos BPEG y PAEG.

La asociación de las variables inmunológicas estudiadas mostraron que en ambos grupos sin desagregar, cuando **umentaban los leucocitos/mm³** los resultados mostraban aumento del número de linfocitos, linfocitos T, B, CD4, CD8/mm³ y disminución del porcentaje (%) de linfocitos y de la ratio CD4/CD8 (**Tabla 7**).

En el mismo caso, el estudio por grupo individual, BPEG y PAEG, mostraba que cuando aumentaban los leucocitos/mm³ aumentaban los linfocitos, linfocitos T, CD4 y CD8/mm³ y disminuían los porcentajes de linfocitos en ambos grupos neonatales.

En los BPEG además aumentaba el total de linfocitos B y disminuía el cociente CD4/CD8 (**Tablas 8,9**).

El número de **linfocitos/mm³** se encontró asociado a variaciones iguales en los dos grupos estudiados, sea el estudio sin desagregar o desagregados en BPEG y PAEG. El incremento de los linfocitos/mm³ se asoció a incremento de leucocitos, linfocitos T, B, CD4, CD8/mm³ y del porcentaje de linfocitos (**Tablas 7,8,9**).

Cuando hallabamos incrementado el número de **linfocitos T/mm³** también se encontraba incrementado los leucocitos, linfocitos, linfocitos B, CD4 y CD8 totales y del porcentaje de linfocitos y linfocitos T en ambos grupos por separado y en conjunto. Además en los BPEG estaban aumentados los porcentajes de linfocitos CD4 y CD8 (**Tablas 7,8,9**).

Para la variable **linfocitos B/mm³** encontramos que su aumento se acompañaba de aumento de los leucocitos y de todos los grupos linfocitarios, cuando el estudio es de ambos grupos sin desagregar (**Tabla 7**) y también en los BPEG aislados (**Tabla 8**) mientras en los PAEG solo se incrementaban los linfocitos totales y los linfocitos CD8 (**Tabla 9**).

Los **linfocitos CD8**, tenían las mismas asociaciones estudiadas en ambos grupos sin desagregar o individualmente. Al aumento de este grupo linfocitario se asociaba a un incremento de los leucocitos, linfocitos, linfocitos T, B, CD4 totales y del porcentaje de linfocitos y disminuía la ratio CD4/CD8 (**Tablas 7,8,9**).

Los **linfocitos CD4**, eran iguales en todos los grupos, sin desagregar o por separado BPEG y PAEG, su aumento iba asociado con el aumento de leucocitos, linfocitos, linfocitos T, B y CD8 y de los porcentajes de linfocitos y linfocitos T con disminución de la ratio CD4/CD8 (**Tablas 7,8,9**).

Tabla 7.
 Correlaciones entre variables inmunológicas en conjunto (PAEG/ BPEG).

Variables inmunológicas	Leucocitos ⊕ ρ/(P)	Linfocitos ⊕ ρ/(P)	Linfocitos T/⊕ ρ/(P)	Linfocitos B/⊕ ρ/(P)	Linfocitos CD8/⊕ ρ/(P)	Linfocitos CD4/⊕ ρ/(P)	Linfocitos /Leucocitos ρ/(P)
Linfocitos [⊕]	0.611 (<0.001)	---	0.862 (<0.001)	0.581 (<0.001)	0.743 (<0.001)	0.821 (<0.001)	0.431 (<0.001)
Linfocitos T [⊕]	0.522 (<0.001)	0.826 (<0.001)	---	0.406 (<0.001)	0.777 (<0.001)	0.941 (<0.001)	0.385 (<0.001)
Linfocitos B [⊕]	0.465 (<0.001)	0.581 (<0.001)	0.406 (<0.001)	---	0.435 (<0.001)	0.345 (<0.001)	0.127 (0.177)
Linfocitos CD8 [⊕]	0.539 (<0.001)	0.743 (<0.001)	0.777 (<0.001)	0.435 (<0.001)	---	0.676 (<0.001)	0.256 (0.004)
Linfocitos CD4 [⊕]	0.456 (<0.001)	0.821 (<0.001)	0.941 (<0.001)	0.345 (<0.001)	0.676 (<0.001)	---	0.402 (<0.001)
Linfocitos /Leucocitos [∞]	-0.383 (<0.001)	0.431 (<0.001)	0.385 (<0.001)	0.126 (0.177)	0.265 (0.004)	0.402 (<0.001)	---
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	-0.140 (0.132)	-0.158 (0.089)	0.289 (0.002)	-0.294 (0.001)	0.090 (0.336)	0.264 (0.004)	0.009 (0.926)
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	0.150 (0.106)	0.048 (0.606)	-0.067 (0.472)	0.802 (<0.001)	0.026 (0.777)	-0.102 (0.272)	-0.133 (0.153)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	0.150 (0.106)	0.098 (0.293)	0.258 (0.005)	0.004 (0.962)	0.685 (<0.001)	0.159 (0.087)	-0.050 (0.595)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	-0.152 (0.103)	-0.075 (0.422)	0.274 (0.003)	-0.274 (0.003)	-0.018 (0.844)	0.443 (<0.001)	0.090 (0.334)

ρ de Spearman.

(P) significación estadística.

⊕ células por mm³.

∞ cociente.

Tabla 8.
 Correlaciones entre variables inmunológicas en el grupo BPEG.

Variables inmunológicas	Leucocitos ⊕ ρ/(P)	Linfocitos ⊕ ρ/(P)	Linfocitos T/⊕ ρ/(P)	Linfocitos B/⊕ ρ/(P)	Linfocitos CD8/⊕ ρ/(P)	Linfocitos CD4/⊕ ρ/(P)	Linfocitos /Leucocitos ρ/(P)
Linfocitos [⊕]	0,641 (<0,001)	---	---	---	---	---	---
Linfocitos T [⊕]	0,537 (<0,001)	0,867 (<0,001)	---	---	---	---	---
Linfocitos B [⊕]	0,456 (<0,001)	0,558 (<0,001)	0,443 (<0,001)	---	---	---	---
Linfocitos CD8 [⊕]	0,582 (<0,001)	0,739 (<0,001)	0,782 (<0,001)	0,444 (<0,001)	---	---	---
Linfocitos CD4 [⊕]	0,479 (<0,001)	0,834 (<0,001)	0,943 (<0,001)	0,366 (<0,001)	0,681 (<0,001)	---	---
Linfocitos /Leucocitos [∞]	-0,315 (0,004)	0,469 (<0,001)	0,437 (<0,001)	0,173 (0,121)	0,250 (0,024)	0,451 (<0,001)	---
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	-0,124 (0,266)	-0,108 (0,335)	0,312 (0,004)	-0,180 (0,105)	0,142 (0,203)	0,280 (0,011)	0,052 (0,640)
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	0,088 (0,429)	-0,083 (0,460)	-0,123 (0,272)	0,740 (<0,001)	-0,043 (0,701)	-0,179 (0,108)	-0,208 (0,061)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	0,248 (0,024)	0,159 (0,153)	0,295 (0,007)	0,105 (0,346)	0,731 (<0,001)	0,186 (0,094)	0,820 (0,463)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	-0,148 (0,184)	-0,047 (0,674)	0,283 (0,010)	-0,215 (0,052)	0,008 (0,943)	0,439 (<0,001)	0,142 (0,204)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.
 ⊕ células por mm³.
 ∞ cociente.

Tabla 9.
 Correlaciones entre variables inmunológicas del grupo PAEG.

Variables inmunológicas	Leucocitos ⊕ ρ/(P)	Linfocitos ⊕ ρ/(P)	Linfocitos T/⊕ ρ/(P)	Linfocitos B/⊕ ρ/(P)	Linfocitos CD8/⊕ ρ/(P)	Linfocitos CD4/⊕ ρ/(P)	Linfocitos /Leucocitos ρ/(P)
Linfocitos [⊕]	0,543 (0,001)	---	---	---	---	---	---
Linfocitos T [⊕]	0,509 (0,002)	0,848 (<0,001)	---	---	---	---	---
Linfocitos B [⊕]	0,196 (0,260)	0,534 (0,001)	0,265 (0,125)	---	---	---	---
Linfocitos CD8 [⊕]	0,415 (0,013)	0,734 (<0,001)	0,771 (<0,001)	0,405 (0,016)	---	---	---
Linfocitos CD4 [⊕]	0,455 (0,006)	0,792 (<0,001)	0,915 (<0,001)	0,258 (0,134)	0,662 (<0,001)	---	---
Linfocitos /Leucocitos [∞]	-0,356 (0,036)	0,509 (0,002)	0,387 (0,022)	0,328 (0,054)	0,439 (0,008)	0,362 (0,032)	---
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	0,014 (0,937)	-0,140 (0,423)	0,355 (0,037)	-0,490 (0,003)	0,023 (0,894)	0,339 (0,046)	-0,193 (0,266)
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	-0,090 (0,609)	0,145 (0,405)	-0,077 (0,661)	0,886 (<0,001)	0,068 (0,698)	-0,047 (0,788)	0,173 (0,320)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	0,086Ç (0,622)	-0,018 (0,917)	0,189 (0,278)	-0,138 (0,429)	0,593 (<0,001)	0,093 (0,595)	0,059 (0,735)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	-0,090 (0,609)	-0,100 (0,569)	0,274 (0,111)	-0,407 (0,015)	-0,018 (0,919)	0,472 (0,004)	-0,095 (0,588)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.
 ⊕ células por mm³.
 ∞ cociente.

En cuanto al **cociente CD4/CD8**, sí aumentaba se asociaba, en el estudio sin desagregar, a aumento de los linfocitos CD4 y de los porcentajes de linfocitos T y CD4, junto a disminución de los leucocitos, linfocitos B y CD8. (**Tabla 10**). En los neonatos de BPEG se asociaba a disminución de leucocitos, linfocitos CD8 y su porcentaje e incremento de los linfocitos CD4 (**Tabla 11**), y en los neonatos PAEG aumentaban los porcentajes de linfocitos T y CD4 junto a la disminución de los linfocitos CD8 y su porcentaje (**Tabla 12**).

Cuando la variables estudiada fueron las **células NK** no hallamos asociaciones, tanto si el estudio se hizo en los dos grupos sin desagregar (**Tabla 10**), como tampoco en ninguno de los dos grupos, BPEG y PAEG, individualmente (**Tablas 11,12**).

Tabla 10.
 Correlaciones entre variables inmunológicas en conjunto (PAEG/BPEG).

Variables inmunológicas	Linfocitos T /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfocitos B /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfo CD8 /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfo CD4 /Linfocitos $\rho/(P)$	Cociente CD4/CD8 $\rho/(P)$	Células NK [⊕] $\rho/(P)$
Leucocitos [⊕]	-0.140 (0.132)	0.150 (0.106)	0.150 (0.106)	-0.152 (0.103)	-0.223 (0.016)	0.051 (0.584)
Linfocitos [⊕]	-0.158 0.089	0.048 (0.606)	0.098 (0.293)	-0.075 (0.422)	-0.124 (0.181)	0.080 (0.390)
Linfocitos T [⊕]	0.289 (0.002)	-0.067 (0.472)	0.258 (0.005)	0.274 (0.003)	-0.009 (0.920)	0.050 (0.592)
Linfocitos B [⊕]	-0.294 (0.001)	0.802 (<0.001)	0.004 (0.962)	-0.274 (0.003)	-0.184 (0.047)	0.026 (0.781)
Linfocitos CD8 [⊕]	0.090 (0.336)	0.026 (0.777)	0.685 (<0.001)	-0.018 (0.844)	-0.547 (<0.001)	0.115 (0.216)
Linfocitos CD4 [⊕]	0.264 (0.004)	-0.102 (0.272)	0.159 (0.087)	0.443 (<0.001)	0.176 (0.057)	0.163 (0.499)
Linfocitos /Leucocitos [∞]	0.009 (0.926)	-0.133 (0.153)	-0.050 (0.595)	0.090 (0.334)	0.071 (0.447)	0.029 (0.754)
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	---	-0.218 (0.018)	0.272 (0.003)	0.726 (<0.001)	0.217 (0.019)	-0.030 (0.749)
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	-0.218 (0.018)	---	-0.062 (0.509)	-0.256 (0.005)	-0.125 (0.179)	0.012 (0.899)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	0.272 (0.003)	-0.062 (0.509)	---	0.045 (0.628)	-0.740 (<0.001)	0.109 (0.244)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	0.726 (<0.001)	-0.256 (0.005)	0.045 (0.628)	---	0.575 (<0.001)	-0.009 (0.923)
Cociente CD4/CD8	0.217 (0.019)	-0.125 (0.179)	-0.740 (<0.001)	0.575 (<0.001)	---	-0.108 (0.245)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.
 ⊕ células por mm³.
 ∞ cociente.

Tabla 11.
 Correlaciones entre variables inmunológicas del grupo BPEG

Variables inmunológicas	Linfocitos T /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfocitos B /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfo CD8 /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfo CD4 /Linfocitos $\rho/(P)$	Cociente CD4/CD8 $\rho/(P)$	Células NK [⊕] $\rho/(P)$
Leucocitos [⊕]	-0,124 (0,266)	0,088 (0,429)	0,248 (0,024)	-0,148 (0,184)	-0,263 (0,017)	-0,071 (0,529)
Linfocitos [⊕]	-0,108 (0,335)	-0,083 (0,460)	0,159 (0,153)	-0,047 (0,674)	-0,150 (0,180)	0,077 (0,493)
Linfocitos T [⊕]	0,312 (0,004)	-0,123 (0,272)	0,295 (0,010)	0,283 (0,010)	-0,056 (0,616)	0,101 (0,369)
Linfocitos B [⊕]	-0,180 (0,105)	0,740 ($<0,001$)	0,105 (0,346)	-0,215 (0,052)	-0,211 (0,057)	-0,075 (0,503)
Linfocitos CD8 [⊕]	0,142 (0,203)	-0,043 (0,701)	0,731 ($<0,001$)	0,008 (0,943)	-0,585 ($<0,001$)	0,141 (0,208)
Linfocitos CD4 [⊕]	0,280 (0,011)	-0,179 (0,108)	0,186 (0,094)	0,439 ($<0,001$)	0,131 (0,242)	0,111 (0,323)
Linfocitos /Leucocitos [∞]	0,052 (0,640)	-0,208 (0,061)	-0,082 (0,463)	0,142 (0,204)	0,113 (0,313)	0,150 (0,179)
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	----	-0,117 (0,297)	0,250 (0,024)	0,713 ($<0,001$)	0,180 (0,105)	0,032 (0,777)
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	--	---	0,008 (0,941)	-0,205 (0,065)	-0,130 (0,244)	-0,116 (0,300)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	---	---	----	-0,001 (0,993)	-0,774 ($<0,001$)	0,188 (0,090)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	---	---	---	---	0,555 ($<0,001$)	0,034 (0,760)
Cociente CD4/CD8	---	---	---	---	---	-0,098 (0,379)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.
 ⊕ células por mm³.
 ∞ cociente.

Tabla 12.
 Correlaciones entre variables inmunológicas en el grupo PAEG.

Variables inmunológicas	Linfocitos T /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfocitos B /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfo CD8 /Linfocitos $\rho/(P)$	Linfo CD4 /Linfocitos $\rho/(P)$	Cociente CD4/CD8 $\rho/(P)$	Células NK [⊕] $\rho/(P)$
Leucocitos [⊕]	0,014 (0,937)	-0,090 (0,609)	0,086 (0,622)	-0,090 (0,609)	-0,124 (0,478)	0,251 (0,146)
Linfocitos [⊕]	-0,140 (0,423)	0,145 (0,405)	-0,018 (0,917)	-0,100 (0,569)	-0,065 (0,710)	0,006 (0,971)
Linfocitos T [⊕]	0,355 (0,037)	-0,077 (0,661)	0,189 (0,278)	0,274 (0,111)	0,086 (0,624)	-0,079 (0,652)
Linfocitos B [⊕]	-0,490 (0,003)	0,886 ($<0,001$)	-0,138 (0,429)	-0,407 (0,015)	-0,217 (0,210)	0,170 (0,330)
Linfocitos CD8 [⊕]	0,023 (0,894)	0,068 (0,698)	0,593 ($<0,001$)	-0,018 (0,919)	-0,433 (0,009)	0,036 (0,839)
Linfocitos CD4 [⊕]	0,339 (0,046)	-0,047 (0,788)	0,093 (0,595)	0,472 (0,004)	0,288 (0,093)	-0,058 (0,742)
Linfocitos /Leucocitos [∞]	0,139 (0,266)	0,137 (0,320)	0,059 (0,735)	-0,095 (0,588)	-0,138 (0,430)	-0,184 (0,291)
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	---	-0,435 (0,009)	0,240 (0,165)	0,769 ($<0,001$)	0,425 (0,011)	0,000 (0,998)
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	---	---	-0,230 (0,184)	-0,351 (0,039)	-0,104 (0,553)	0,193 (0,266)
Linf. CD8 /Linfocitos [∞]	---	---	---	0,086 (0,624)	-0,639 ($<0,001$)	-0,015 (0,933)
Linf. CD4 /Linfocitos [∞]	---	---	---	---	0,655 ($<0,001$)	-0,058 (0,739)
Cociente CD4/CD8	---	---	---	---	---	-0,115 (0,509)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.
 ⊕ células por mm³.
 ∞ cociente.

Estudio de asociaciones de las **variables clínicas** entre sí:

Cuando aumentaba la **edad materna (Tabla 13)** se asociaba a un mayor número de gestaciones ($p=0,006$), menor peso del recién nacido ($p=0,003$) y test de Apgar a los 5 minutos inferiores ($p=0,044$) en los neonatos BPEG, sin embargo en los neonatos PAEG la mayor edad materna solamente se correlacionaba con mayor número de gestaciones ($p=0,010$).

Tabla 13.
 Correlación entre edad materna y diferentes variables clínicas.

Variables clínicas	BPEG $\rho/(P)$	PAEG $\rho/(P)$
Número de gestación	0,300 (0,006)	0,428 (0,010)
Edad gestacional	-0,177 (0,111)	-0,045 (0,796)
Peso recién nacido	-0,328 (0,003)	0,103 (0,557)
Peso placenta	-0,144 (0,196)	0,046 (0,795)
Apgar 1 minuto	-0,197 (0,176)	-0,055 (0,754)
Apgar 5 minutos	-0,223 (0,044)	-0,116 (0,509)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.

La variable **número de gestacion (Tabla 14)**, presentaba la misma correlación que la edad materna, al aumentar el número de gestaciones la edad de la madre también es mayor en ambos grupos de neonatos, BPEG ($p=0,006$) y PAEG ($p=0,010$).

Tabla 14.
 Correlación entre el número de gestación y diferentes variables clínicas.

VARIABLES CLÍNICAS	BPEG $\rho/(P)$	PAEG $\rho/(P)$
Edad materna	0,300 (0,006)	0,428 (0,010)
Edad gestacional	-0,057 (0,611)	0,002 (0,990)
Peso recién nacido	0,064 (0,568)	0,062 (0,725)
Peso placenta	0,026 (0,816)	0,004 (0,984)
Apgar 1 minuto	-0,064 (0,570)	0,221 (0,203)
Apgar 5 minutos	-0,045 (0,689)	0,180 (0,300)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.

El aumento de la **edad gestacional (Tabla 15)**, se asociaba positivamente en ambos grupos de neonatos, BPEG y PAEG, con incrementos del peso del recién nacido ($p < 0,001$) y de la placenta ($p = 0,002$ y $0,005$).

Tabla 15.
 Correlación entre la edad gestacional y diferentes variables clínicas.

VARIABLES CLÍNICAS	BPEG $\rho/(P)$	PAEG $\rho/(P)$
Edad materna	-0,177 (0,111)	-0,045 (0,796)
Número de gestación	-0,057 (0,611)	0,002 (0,990)
Peso recién nacido	0,583 ($<0,001$)	0,592 ($<0,001$)
Peso placenta	0,333 (0,002)	0,460 (0,005)
Apgar 1 minuto	0,176 (0,113)	0,273 (0,113)
Apgar 5 minutos	0,198 (0,074)	-0,020 (0,910)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.

Un mayor **peso del neonato (Tabla 16)**, iba asociado en ambos grupos con mayor edad gestacional ($p < 0,001$) y mayor peso placentario ($p < 0,001$). Además, en los BPEG, también aumentaba el test de Apgar al minuto ($p = 0,002$) y 5 minutos ($p < 0,001$). El peso del neonato tiende a disminuir en los BPEG al aumentar la edad materna ($p = 0,003$).

Tabla 16.
 Correlación entre el peso al nacer y diferentes variables clínicas.

Variabes clínicas	BPEG $\rho/(P)$	PAEG $\rho/(P)$
Edad materna	-0,328 (0,003)	0,103 (0,557)
Núm gestación	0,064 (0,568)	0,062 (0,725)
Edad gestacional	0,583 ($<0,001$)	0,592 ($<0,001$)
Peso placenta	0,533 ($<0,001$)	0,691 ($<0,001$)
Apgar 1 minuto	0,336 (0,002)	-0,002 (0,992)
Apgar 5 minutos	0,397 ($<0,001$)	-0,258 (0,135)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.

Cuando hallabamos aumentado el **peso de la placenta (Tabla 17)**, también estaban incrementados la edad gestacional y el peso del neonato en ambos grupos ($p < 0,001$); y en los BPEG también, el test de Apgar a los 5 minutos ($p = 0,016$).

Tabla 17.
 Correlación entre el peso de la placenta y diferentes variables clínicas.

Variables clínicas	BPEG $\rho/(P)$	PAEG $\rho/(P)$
Edad materna (años)	-0,144 (0,196)	0,046 (0,795)
Número de gestación	0,026 (0,816)	0,004 (0,984)
Edad gestacional (semanas)	0,333 (0,002)	0,460 (0,005)
Peso recién nacido (g)	0,533 ($<0,001$)	0,691 ($<0,001$)
Apgar 1 minuto	0,206 (0,063)	-0,187 (0,281)
Apgar 5 minutos	0,265 (0,016)	-0,272 (0,214)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.

La mayor puntuación del **test de Apgar al minuto** de vida (**Tabla 18**) se asociaba, en ambos grupos, con aumento de dicho test a los 5 minutos ($p < 0,001$) y, en los BPEG, con el aumento del peso ($p = 0,002$).

Tabla 18.
 Correlación entre el test de Apgar al 1^{er} minuto y diferentes variables clínicas.

VARIABLES CLÍNICAS	BPEG $\rho/(P)$	PAEG $\rho/(P)$
Edad materna	-0,197 (0,176)	-0,055 (0,754)
Número de gestación	-0,064 (0,570)	0,221 (0,203)
Edad gestacional	0,176 (0,113)	0,273 (0,113)
Peso recién nacido	0,336 (0,002)	-0,002 (0,992)
Peso placenta	0,206 (0,063)	-0,187 (0,281)
Apgar 5 minutos	0,724 ($<0,001$)	0,652 ($<0,001$)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.

El test de **Apgar a los 5 minutos (Tabla 19)**, se encontraba aumentado en ambos grupos cuando también estaba aumentado al minuto ($p < 0,001$) y en los BPEG cuando la madre es más joven ($p = 0,044$) y es mayor el peso del recién nacido ($p < 0,001$) y de la placenta ($p = 0,016$).

Tabla 19.
 Correlación entre test de Apgar a los 5 minutos y diferentes variables clínicas.

Variables clínicas	BPEG $\rho/(P)$	PAEG $\rho/(P)$
Edad materna (años)	-0,223 (0,044)	-0,116 (-0,509)
Número de gestación	-0,045 (0,689)	0,180 (0,300)
Edad gestacional (semanas)	0,198 (0,074)	-0,020 (0,910)
Peso recién nacido (g)	0,397 ($<0,001$)	-0,258 (0,135)
Peso placenta (g)	0,265 (0,016)	-0,272 (0,214)
Apgar 1 minuto	0,724 ($<0,001$)	0,652 ($<0,001$)

ρ de Spearman.
 (P) significación estadística.

En las **asociaciones del sexo del recién nacido con las variables clínicas e inmunológicas**, no hallamos diferencias significativas entre ninguno de los sexos con ninguno de los grupos de variables, clínicas e inmunológicas, tanto si el estudio se hace en ambos grupos en conjunto, PAEG y BPEG, o por grupos de estudio separados, PAEG y BPEG (**Tablas 20,21,22,23,24,25**).

Tabla 20.
 Variables clínicas según el sexo sin desagregar BPEG/PAEG.

Variables clínicas	Mujer (N=60) Media \pm DE (Mediana)	Varón (N=57) Media \pm DE (Mediana)	P*
Edad materna (años)	27,7 \pm 5,2 (28,0)	27,8 \pm 4,6 (27,0)	0,791
Núm de gestación	2,0 \pm 1,2 (2,0)	2,0 \pm 1,1 (2,0)	0,835
Edad gestacional (semanas)	38,9 \pm 1,3 (38,8)	38,9 \pm 1,3 (38,7)	0,915
Peso al nacer (g)	2.336,9 \pm 531,9 (2.210,0)	2.414,8 \pm 606,3 (2.260,0)	0,434
Peso de la placenta (g)	453,7 \pm 123,8 (430,0)	465,9 \pm 125,5 (450,0)	0,597
Apgar al minuto	8,6 \pm 0,9 (9,0)	8,4 \pm 1,2 (9,0)	0,509
Apgar a los 5 minutos	9,7 \pm 0,6 (10,0)	9,5 \pm 0,6 (10,0)	0,759

* U de Mann-Whitney.

Tabla 21
 Variables clínicas según el sexo en neonatos de BPEG.

Variables clínicas	Mujer (N=43) Media \pm DE (Mediana)	Varón (N=39) Media \pm DE (Mediana)	P*
Edad materna (años)	27,6 \pm 4,9 (28,0)	28,0 \pm 5,0 (27,0)	0,625
Núm de gestación	1,9 \pm 1,1 (2,0)	1,9 \pm 1,1 (2,0)	0,984
Edad gestacional (semanas)	38,8 \pm 1,2 (38,4)	38,9 \pm 1,3 (38,4)	0,841
Peso al nacer (g)	2.087,9 \pm 248,6 (2.115,0)	2.124,2 \pm 358,4 (2.130,0)	0,613
Peso de la placenta (g)	404,2 \pm 87,7 (390,0)	419,4 \pm 105,1 (400,0)	0,645
Apgar al minuto	8,4 \pm 1,0 (9,0)	8,2 \pm 1,3 (9,0)	0,784
Apgar a los 5 minutos	9,6 \pm 0,6 (10,0)	9,6 \pm 0,6 (10,0)	0,815

* U de Mann-Whitney.

Tabla 22.
 Variables clínicas según el sexo en neonatos de PAEG.

Variables clínicas	Mujer (N=17) Media \pm DE (Mediana)	Varón (N=18) Media \pm DE (Mediana)	P*
Edad materna (años)	28,1 \pm 5,9 (28,0)	27,5 \pm 3,6 (27,5)	0,782
Núm de gestación	2,4 \pm 1,5 (2,0)	2,3 \pm 1,2 (2,0)	0,858
Edad gestacional (semanas)	39,4 \pm 1,4 (39,1)	39,0 \pm 1,2 (38,9)	0,483
Peso al nacer (g)	2.966,8 \pm 541,2 (3.125,0)	3.044,4 \pm 557,3 (3.220,0)	0,708
Peso de la placenta (g)	578,8 \pm 114,4 (600,0)	566,8 \pm 107,1 (575,0)	0,935
Apgar al minuto	8,9 \pm 0,2 (9,0)	8,7 \pm 0,6 (9,0)	0,405
Apgar a los 5 minutos	9,8 \pm 0,6 (10,0)	9,7 \pm 0,6 (10,0)	0,832

* U de Mann-Whitney.

Tabla 23
 Estudio de las variables inmunológicas en conjunto BPEG/PAEG según el sexo.

VARIABLES inmunológicas	Mujer (N=60) Media ± DE (Mediana)	Varón (N=57) Media ± DE (Mediana)	P*
Leucocitos [⊕]	13.518,3 ± 5.439,5 (12.850,0)	12.884,2 ± 4.025,0 (12.400,0)	0,113
Linfocitos [⊕]	4.540,9 ± 1542,1 (4.370,5)	4.789,1 ± 1.766,2 (4.365,0)	0,572
Linfocitos T [⊕]	3.162,2 ± 1.240,0 (3.040,0)	3.370,9 ± 1.253,0 (3.110,0)	0,523
Linfocitos B [⊕]	465,2 ± 329,5 (375,0)	611,1 ± 567,5 (420,0)	0,895
Linfocitos CD8 [⊕]	1.141,7 ± 596,4 (1.040,0)	1.274,0 ± 615,0 (1.170,0)	0,725
Linfocitos CD4 [⊕]	2.427,3 ± 1.039,5 (2.295,0)	2.488,6 ± 958,7 (2.240,0)	0,357
Linfocitos /Leucocitos [∞]	36,0 ± 11,1 (34,0)	38,0 ± 10,3 (36,1)	0,387
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	69,9 ± 13,3 (73,0)	70,9 ± 14,0 (73,1)	0,879
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	10,3 ± 6,1 (8,9)	12,1 ± 7,9 (9,0)	0,485
Linfocitos CD8 /Linfocitos [∞]	24,6 ± 7,9 (24,5)	26,3 ± 7,6 (26,1)	0,907
Linfocitos CD4 /Linfocitos [∞]	53,2 ± 12,7 (52,9)	52,6 ± 12,9 (52,9)	0,444
Cociente CD4/CD8	2,4 ± 0,9 (2,1)	2,2 ± 0,8 (2,0)	0,422
Total células NK [⊕]	14,8 ± 26,6 (0,0)	11,5 ± 22,4 (0,0)	0,373

*U de Mann-Whitney.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

Tabla 24
 Estudio de las variables inmunológicas en el BPEG según el sexo.

VARIABLES INMUNOLÓGICAS	Mujer (N=43) Media ± DE (Mediana)	Varón (N=39) Media ± DE (Mediana)	P*
Leucocitos [⊕]	12.553,5 ± 5.358,1 (10.700,0)	11.689,7 ± 3.498,6 (11.200,0)	0,908
Linfocitos [⊕]	4.397,5 ± 1.514,7 (4.219,0)	4.470,7 ± 1.683,2 (4.060,0)	0,820
Linfocitos T [⊕]	3.064,0 ± 1.230,4 (3.000,0)	3.213,6 ± 1.303,0 (3.030,0)	0,584
Linfocitos B [⊕]	398,1 ± 245,7 (350,0)	444,1 ± 325,6 (360,0)	0,773
Linfocitos CD8 [⊕]	1.111,4 ± 656,7 (860,0)	1.223,3 ± 596,8 (1.230,0)	0,139
Linfocitos CD4 [⊕]	2.356,0 ± 1.032,0 (2.100,0)	2.391,3 ± 1.010,1 (2.140,0)	0,738
Linfocitos /Leucocitos [∞]	37,7 ± 11,8 (38,3)	38,3 ± 10,3 (37,3)	0,853
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	69,9 ± 13,6 (73,0)	72,8 ± 14,9 (76,0)	0,288
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	9,2 ± 5,0 (8,1)	10,0 ± 5,9 (8,1)	0,673
Linfocitos CD8 /Linfocitos [∞]	24,4 ± 8,5 (24,0)	27,3 ± 8,1 (27,9)	0,067
Linfocitos CD4 /Linfocitos [∞]	53,3 ± 13,2 (52,9)	54,4 ± 13,6 (54,2)	0,683
Cociente CD4/CD8	2,4 ± 0,9 (2,1)	2,2 ± 0,9 (1,9)	0,195
Total células NK [⊕]	12,2 ± 24,9 (0,0)	10,6 ± 22,4 (0,0)	0,889

U de Mann-Whitney.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

Tabla 25.
 Estudio de las variables inmunológicas en el PAEG según el sexo.

Variables inmunológicas	Mujer (N=17) Media \pm DE (Mediana)	Varón (N=18) Media \pm DE (Mediana)	P*
Leucocitos [⊕]	15.958,8 \pm 4.991,2 (14.700,0)	15.472,2 \pm 3.955,0 (14.850,0)	0,883
Linfocitos [⊕]	4.903,3 \pm 1.597,2 (4.376,0)	5.615,4 \pm 1.698,9 (5.046,0)	0,184
Linfocitos T [⊕]	3.410,4 \pm 1.266,8 (3.080,0)	3.711,7 \pm 1.097,1 (3.765,0)	0,483
Linfocitos B [⊕]	634,7 \pm 446,5 (450,0)	972,8 \pm 788,4 (650,0)	0,143
Linfocitos CD8 [⊕]	1.218,2 \pm 413,5 (1.210,0)	1.383,9 \pm 656,7 (1.160,0)	0,858
Linfocitos CD4 [⊕]	2.607,6 \pm 1.067,9 (2.550,0)	2.699,4 \pm 823,3 (2.690,0)	0,636
Linfocitos /Leucocitos [∞]	31,6 \pm 7,6 (31,7)	37,4 \pm 10,7 (34,0)	0,103
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	69,7 \pm 12,8 (72,9)	66,9 \pm 11,2 (68,0)	0,318
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	12,8 \pm 8,0 (11,1)	16,6 \pm 9,9 (12,9)	0,207
Linfocitos CD8 /Linfocitos [∞]	25,3 \pm 6,5 (26,1)	24,0 \pm 5,7 (22,9)	0,568
Linfocitos CD4 /Linfocitos [∞]	53,0 \pm 11,9 (52,2)	48,8 \pm 10,6 (49,0)	0,195
Cociente CD4/CD8	2,2 \pm 0,8 (2,2)	2,1 \pm 0,7 (2,0)	0,807
Total células NK [⊕]	21,3 \pm 30,2 (0,0)	13,3 \pm 23,0 (0,0)	0,483

U de Mann-Whitney.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

En el estudio variables clínicas según el tipo de parto, en ambos grupos sin desagregar, BPEG y PAEG, hallamos que las **cesáreas** son más frecuentes a mayor edad materna, también, cuando es menor el número de gestación y la edad gestacional. Además, en las cesáreas, el peso del neonato, de la placenta, el test de Apgar al minuto y a los 5 minutos son menores (**Tabla 26**).

Tabla 26.
 Variables clínicas según el tipo de parto sin desagregar BPEG/PAEG.

Variables	Vaginal (N=80) Media \pm DE (Mediana)	Cesárea (N=37) Media \pm DE (Mediana)	P*
Edad materna	26,9 \pm 4,9 (27,0)	29,7 \pm 4,1 (30,0)	0,003
Núm. de gestación	2,2 \pm 1,3 (2,0)	1,7 \pm 0,9 (1,0)	0,037
Edad gestacional	39,1 \pm 1,2 (39,0)	38,5 \pm 1,4 (38,0)	0,002
Peso al nacer	2.503,9 \pm 543,1 (2.300,0)	2.095,9 \pm 525,5 (2.015,0)	<0,001
Peso de la placenta	478,9 \pm 106,3 (470,0)	418,1 \pm 149,5 (380,0)	<0,001
Apgar al minuto	8,0 \pm 0,6 (9,0)	7,9 \pm 1,5 (8,0)	<0,001
Apgar a los 5 minutos	9,8 \pm 0,5 (10,0)	9,3 \pm 0,7 (9,0)	<0,001

- U de Mann-Whitney.

Al analizar las variables clínicas con la forma de nacer en los neonatos BPEG (**Tabla 27**), hallamos que la **cesárea** era más frecuente a mayor edad materna ($p=0,004$), menor edad gestacional ($p=0,008$), menor peso del recién nacido ($p<0,001$), menor peso de la placenta ($p=0,002$) y test de Apgar má bajo al minuto ($p=0,002$) y 5 minutos ($p<0,001$).

Tabla 27.
 Variables clínicas según el tipo de parto en neonatos de BPEG.

Variables clínicas	Vaginal (N=51) Media \pm DE (Mediana)	Cesárea (N=31) Media \pm DE (Mediana)	P*
Edad materna	26,5 \pm 4,9 (26,0)	29,8 \pm 4,3 (30,0)	0,004
Núm. de gestación	1,9 \pm 1,0 (2,0)	1,7 \pm 1,0 (1,0)	0,461
Edad gestacional	39,0 \pm 1,2 (39,0)	38,4 \pm 1,3 (38,0)	0,008
Peso al nacer	2.225,4 \pm 275,2 (2.210,0)	1.907,4 \pm 242,6 (1.940,0)	<0,001
Peso de la placenta	429,8 \pm 7,4 (430,0)	381,1 \pm 119,3 (345,0)	0,001
Apgar al minuto	8,7 \pm 0,6 (9,0)	7,7 \pm 1,5 (8,0)	0,002
Apgar a los 5 minutos	9,8 \pm 0,5 (10,0)	9,3 \pm 0,7 (9,0)	<0,001

* U de Mann-Whitney.

Si embargo, en los PAEG (**Tabla 28**), la frecuencia de las cesáreas solamente se asocia a número de gestación menor ($p=0,024$) y test de Apgar a los 5 minutos más bajo ($p=0,050$).

Tabla 28.
 Variables clínicas según el tipo de parto en neonatos PAEG.

Variables clínicas	Vaginal (N=29) Media \pm DE (Mediana)	Cesárea (N=6) Media \pm DE (Mediana)	P*
Edad materna	27,5 \pm 5,0 (28,0)	29,3 \pm 3,0 (29,0)	0,379
Núm de gestación	0,6 \pm 1,4 (2,0)	1,3 \pm 0,5 (1,0)	0,024
Edad gestacional	39,3 \pm 1,3 (39,0)	38,9 \pm 1,7 (38,6)	0,454
Peso al nacer	2.993,6 \pm 554,4 (3.125,4)	3.070,0 \pm 525,9 (3.320,0)	0,454
Peso de la placenta	565,1 \pm 99,9 (590,0)	609 \pm 152,6 (600,0)	0,623
Apgar al minuto	8,9 \pm 0,4 (9,0)	8,7 \pm 0,5 (9,0)	0,428
Apgar a los 5 minutos	9,8 \pm 0,5 (10,0)	9,3 \pm 0,7 (9,0)	0,050

* U de Mann-Whitney.

En el estudio de las variables inmunológicas y su correlación con el tipo de parto, **vaginal vs cesárea**, no hallamos diferencias significativas ya sea el estudio de ambos grupos, BPEG y PAEG, en conjunto (**Tabla 29**) o desagregado en BPEG (**Tabla 30**) y PAEG (**Tabla 31**).

Tabla 29.
 Perfil inmunológico según el tipo de parto. En conjunto BPEG/PAEG.

Variables inmunológicas	Vaginal (N=80) Media \pm DE (Mediana)	Cesárea (N=37) Media \pm DE (Mediana)	P*
Leucocitos [⊕]	13.617,5 \pm 4.823,6 (13.000,0)	12.327,0 \pm 4.668,1 (10.800,0)	0,113
Linfocitos [⊕]	4.734,2 \pm 1.679,2 (4.370,5)	4.505,3 \pm 1.604,6 (4.365,0)	0,572
Linfocitos T [⊕]	3.310,4 \pm 1.269,9 (3.125,0)	3.163,2 \pm 1.201,5 (3.030,0)	0,523
Linfocitos B [⊕]	552,3 \pm 512,1 (400,0)	501,6 \pm 344,8 (400,0)	0,895
Linfocitos CD8 [⊕]	1.230,3 \pm 627,4 (1.120,0)	1.154,1 \pm 563,5 (1.090,0)	0,725
Linfocitos CD4 [⊕]	2.516,8 \pm 996,0 (2.340,0)	2.328,4 \pm 1.000,9 (2.230,0)	0,357
Linfocitos /Leucocitos [∞]	36,5 \pm 11,1 (34,1)	38,0 \pm 9,9 (37,6)	0,387
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	70,2 \pm 14,1 (73,1)	70,8 \pm 12,5 (71,2)	0,879
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	11,1 \pm 7,5 (8,9)	11,2 \pm 6,2 (9,9)	0,485
Linfocitos CD8 /Linfocitos [∞]	25,5 \pm 7,9 (26,0)	25,2 \pm 7,6 (24,9)	0,907
Linfocitos CD4 /Linfocitos [∞]	53,5 \pm 12,3 (52,9)	51,7 \pm 13,9 (51,3)	0,444
Cociente CD4/CD8	2,3 \pm 0,8 (2,1)	2,2 \pm 0,9 (1,8)	0,422
Total células NK [⊕]	11,7 \pm 23,5 (0,0)	16,3 \pm 27,0 (0,0)	0,373

U de Mann-Whitney.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

Tabla 30.
 Perfil inmunológico según el tipo de parto en neonatos BPEG.

Variables inmunológicas	Vaginal (N=51) Media \pm DE (Mediana)	Cesárea (N=31) Media \pm DE (Mediana)	P*
Leucocitos [⊕]	12.582,4 \pm 4.881,9 (12.600,0)	11.419,4 \pm 3.951,7 (10.700,0)	0,291
Linfocitos [⊕]	4.474,4 \pm 1.617,7 (3.906,0)	4.283,8 \pm 1.554,2 (4.085,0)	0,609
Linfocitos T [⊕]	3.224,5 \pm 1.333,4 (3.140,0)	2.988,1 \pm 1.134,0 (2.990,0)	0,444
Linfocitos B [⊕]	395,9 \pm 255,7 (340,0)	459,7 \pm 329,6 (370,0)	0,366
Linfocitos CD8 [⊕]	1.203,3 \pm 658,1 (1.100,0)	1.101,0 \pm 578,7 (1.040,0)	0,544
Linfocitos CD4 [⊕]	2.484,5 \pm 1.058,1 (2.170,0)	2.189,0 \pm 928,7 (1.990,0)	0,261
Linfocitos /Leucocitos [∞]	37,5 \pm 11,5 (36,7)	38,8 \pm 10,5 (37,9)	0,563
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	71,7 \pm 15,0 (74,0)	70,5 \pm 13,1 (70,0)	0,337
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	8,9 \pm 4,7 (8,0)	10,9 \pm 6,2 (9,0)	0,109
Linfocitos CD8 /Linfocitos [∞]	26,2 \pm 8,8 (26,1)	25,1 \pm 7,9 (25,2)	0,596
Linfocitos CD4 /Linfocitos [∞]	55,4 \pm 12,4 (55,9)	51,3 \pm 14,6 (51,2)	0,131
Cociente CD4/CD8	2,3 \pm 0,9 (2,1)	2,2 \pm 0,9 (1,8)	0,371
Total células NK [⊕]	10,3 \pm 23,3 (0,0)	13,4 \pm 24,5 (0,0)	0,529

U de Mann-Whitney.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

Tabla 31.
 Perfil inmunológico según el tipo de parto en neonatos PAEG.

Variables inmunológicas	Vaginal (N=29) Media \pm DE (Mediana)	Cesárea (N=6) Media \pm DE (Mediana)	P*
Leucocitos [⊕]	15.437,9 \pm 4.207,5 (14.700,0)	17.016,7 \pm 5.630,4 (18.100,0)	0,507
Linfocitos [⊕]	5.191,1 \pm 1.715,7 (4.484,0)	5.649,7 \pm 1.472,6 (5.544,09)	0,403
Linfocitos T [⊕]	3.461,4 \pm 1.156,7 (3.100,0)	4.068,3 \pm 1.226,6 (4.075,0)	0,356
Linfocitos B [⊕]	827,2 \pm 707,4 (510,0)	718,3 \pm 369,9 (600,0)	0,848
Linfocitos CD8 [⊕]	1.277,6 \pm 577,8 (1.150,0)	1.428,3 \pm 411,5 (1.300,0)	0,218
Linfocitos CD4 [⊕]	2.573,4 \pm 891,4 (2.550,0)	3.048,3 \pm 1.138,1 (2.690,0)	0,454
Linfocitos /Leucocitos [∞]	34,6 \pm 10,4 (32,7)	34,3 \pm 5,1 (32,6)	0,881
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	67,5 \pm 12,3 (72,0)	71,9 \pm 9,8 (73,6)	0,564
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	15,2 \pm 9,6 (12,0)	12,8 \pm 6,1 (12,0)	0,815
Linfocitos CD8 /Linfocitos [∞]	24,3 \pm 6,0 (23,9)	26,0 \pm 6,8 (24,0)	0,564
Linfocitos CD4 /Linfocitos [∞]	50,2 \pm 11,6 (51,0)	53,7 \pm 9,9 (53,1)	0,454
Cociente CD4/CD8	2,2 \pm 0,7 (2,0)	2,2 \pm 0,9 (1,9)	0,881
Total células NK [⊕]	14,2 \pm 24,0 (0,0)	31,7 \pm 36,0 (25,0)	0,312

U de Mann-Whitney.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

Los resultados de las variables clínicas, en los neonatos de BPEG, según el **peso del recién nacido sea menor o igual/mayor de 2.000 g**, hallamos que en las variables clínicas (**Tabla 32**), el menor peso del neonato se asociaba a menor edad gestacional, menor peso del recién nacido y de la placenta y test de Apgar más bajos al minuto y a los cinco minutos y todos ellos con $p < 0,001$.

Tabla 32.
 Variables clínicas del grupo BPEG según el peso menor o mayor/igual de 2.000 g.

VARIABLES	< 2.000 g (N= 19) Media ± DE (Mediana)	≥ 2.000 g (N= 98) Media ± DE (Mediana)	P*
Edad materna	29,5 ± 4,5 (29,0)	27,5 ± 4,9 (27,0)	0,081
Núm. de gestación	1,8 ± 1,0 (2,0)	2,0 ± 1,2 (2,0)	0,566
Edad gestacional	37,7 ± 0,5 (37,6)	39,2 ± 1,3 (39,0)	<0,001
Peso al nacer	1.735,3 ± 147,5 (1.700,0)	2.498,9 ± 535,2 (2.285,0)	<0,001
Peso de la placenta	335,3 ± 47,7 (330,0)	483,8 ± 120,1 (470,0)	<0,001
Apgar al minuto	7,5 ± 1,6 (8,0)	8,7 ± 0,7 (9,0)	<0,001
Apgar a los 5 minutos	9,2 ± 0,6 (9,0)	9,7 ± 0,6 (10,0)	<0,001

* U de Mann-Whitney.

En el mismo estudio de correlación de las variables inmunológicas entre los dos grupos de neonatos BPEG, **menos de 2.000 vs igual/más de 2.000 g**, no hallamos diferencias entre ambos grupos (Tabla 33).

Tabla 33.
 Variables inmunológicas del grupo BPEG según el peso menor o mayor/igual de 2.000 g.

Variables	< 2.000 g (N=19) Media \pm DE (Mediana)	\geq 2.000 g (N=98) Media \pm DE (Mediana)	P*
Leucocitos [⊕]	10.868,4 \pm 3.427,0 (10.500,0)	12.527,2 \pm 4.810,3 (12.300,0)	0,182
Linfocitos [⊕]	4.324,3 \pm 1.813,4 (4.085,0)	4.425,9 \pm 1.527,6 (4.060,0)	0,594
Linfocitos T [⊕]	2.916,3 \pm 1.261,6 (2.860,0)	3.201,1 \pm 1.261,9 (3.140,0)	0,339
Linfocitos B [⊕]	426,3 \pm 305,5 (350,0)	418,1 \pm 281,8 (350,0)	0,939
Linfocitos CD8 [⊕]	1.040,5 \pm 683,4 (900,0)	1.202,1 \pm 610,6 (1.110,0)	0,158
Linfocitos CD4 [⊕]	2.131,6 \pm 1.044,6 (1.960,0)	2.445,6 \pm 1.003,6 (2.230,0)	0,240
Linfocitos /Leucocitos [∞]	39,9 \pm 10,8 (37,9)	37,4 \pm 11,2 (36,7)	0,404
Linfocitos T /Linfocitos [∞]	69,1 \pm 16,9 (69,4)	71,9 \pm 13,4 (74,0)	0,452
Linfocitos B /Linfocitos [∞]	10,0 \pm 5,3 (9,0)	9,5 \pm 5,4 (8,1)	0,656
Linfocitos CD8 /Linfocitos [∞]	22,9 \pm 8,5 (22,9)	26,7 \pm 8,2 (27,9)	0,087
Linfocitos CD4 /Linfocitos [∞]	50,0 \pm 17,9 (51,3)	55,0 \pm 11,5 (54,2)	0,204
Cociente CD4/CD8	2,4 \pm 1,1 (1,8)	2,3 \pm 0,8 (2,0)	0,969
Total células NK [⊕]	15,3 \pm 28,0 (0,0)	10,3 \pm 22,3 (0,0)	0,731

*U de Mann-Whitney.

⊕ células por mm³.

∞ cociente expresado en forma de porcentaje.

5. DISCUSIÓN

Nuestros resultados indican que existen diferencias en la inmunidad celular de los neonatos BPEG respecto a los neonatos que son PAEG.

Dichos resultados muestran que, con un índice de confianza del 95%, el grupo BPEG tiene disminuido el número de leucocitos totales entre 1.900 y 5.300 (células/mm³); el de linfocitos totales, entre 196 y 1.446; los linfocitos B totales, disminuidos entre 100 y 350; así como el porcentaje de linfocitos B, también disminuido entre el 1% y el 6 % (**Tabla 3**).

Nuestro estudio, a pesar de realizarse con un tamaño muestral a priori suficiente, ha encontrado una mayor variabilidad natural de la descrita en la literatura para algunas poblaciones linfocitarias (166,169,170,209) y, por ello, no alcanza potencia estadística para demostrar diferencias sustanciales en CD4, CD8, CD4/CD8 y NK entre los dos grupos, BPEG y PAEG, por lo que los resultados en estas poblaciones linfocitarias no son concluyentes (**Tabla 2**). Pero en todas estas variables encontramos valores inferiores en los neonatos BPEG respecto a los recién nacidos PAEG, excepto en el cociente CD4/CD8, en que no hay diferencias (**Tabla 3**).

Esta mayor variabilidad, muy superior a los estudios publicados hasta la fecha, quizás pueda deberse a que nuestra muestra es mayor y, por tanto, más representativa de la realidad del grupo de neonatos de bajo peso y necesitemos más niños para que los resultados sean concluyentes.

Sí alcanzamos potencia estadística suficiente para analizar las diferencias en las variables porcentaje de linfocitos, linfocitos T totales y porcentaje de linfocitos T, porcentaje de linfocitos CD4 y porcentaje de linfocitos CD8 (**Tabla 2**), lo cual nos permite sugerir que no hay diferencias importantes en estos grupos entre los neonatos BPEG y los que son PAEG (**Tabla 3**).

Creemos que nuestros resultados son fiables porque se han obtenido con el mayor número de casos publicados; en una serie homogénea; en condiciones muy definidas para su reclutamiento, ateniéndonos a las múltiples influencias, exógenas (56-61), endógenas y ambientales (184-197) que pueden influir en el desarrollo de la inmunidad en el feto tanto para el grupo estudio como para el grupo control; con un método moderno, Citometría de flujo y AcMo, ampliamente utilizado tanto en la clínica como en la investigación (198-200).

Además, la recogida de la muestra, realizada en el momento de nacer, y su rápido procesamiento disminuye las posibilidades de estímulos antigénicos y por ello, de la activación inmunológica y la proliferación celular subsiguiente a dicho estímulo.

No todos los resultados obtenidos por otros investigadores concuerdan con los nuestros (210-213). Algunos encuentran cifras diferentes en los valores totales, también en los porcentajes, incluso en poblaciones similares y con las mismas características clínicas que nuestro estudio.

Las razones de estas diferencias pueden ser varias, quizás las más frecuentes sean que las poblaciones de estudio pueden no ser homogéneas (209,170) o se han realizado con un número limitado de neonatos (166,169) o, quizás con diferentes tiempos de obtención de la muestra (170). También podrían deberse a las técnicas utilizadas (169) para determinar las poblaciones linfocitarias; todas pueden influir en la cuantificación de los valores aunque no en las asociaciones encontradas.

Otros investigadores han encontrado algunos resultados similares a los nuestros, como es el caso de: Chatrath R. y cols (166), que estudiaron un grupo reducido de neonatos a término (25 de BPEG y 25 de PAEG) y encontraron, al igual que nosotros, disminuido el número total de leucocitos y de linfocitos. Estos autores no hacen referencia a los linfocitos B pero hallan valores de IgG inferiores en los BPEG que atribuyen a un posible escaso aporte sanguíneo de la madre al feto, debido, entre otras causas, a una menor área de superficie de la placenta ya que las IgG pasan la barrera placentaria a partir de la 12^a semana de gestación. Aunque ellos refieran el tamaño placentario como causa de este déficit de inmunoglobulinas G, a la vista de nuestros resultados estos valores disminuidos en los neonatos de BPEG se explicarían mejor por el déficit de los linfocitos B, tanto en número como en porcentaje, que es lo hallado en nuestro estudio.

También encuentran en los neonatos BPEG el porcentaje de CD4 más bajo y el porcentaje de los linfocitos CD8 superior que en los PAEG, en ambos casos de forma estadísticamente significativa. Por lo que la ratio CD4/CD8 lógicamente es superior en los PAEG.

Sin embargo, nosotros alcanzamos potencia estadística suficiente, en la estimación de estos dos porcentajes (**Tabla 2**), para sugerir que estas diferencias no son importantes entre ambos grupos de neonatos.

S. Kiss y cols. (170) en su trabajo, metodológicamente muy diferente al nuestro, y Thomas RM. & Linch DC. (209) usando anticuerpos monoclonales, encuentran como nosotros el número de linfocitos B totales y su porcentaje más bajo en los neonatos BPEG que en los que son PAEG. En ambos los linfocitos T totales fueron menores en los neonatos BPEG y, en todos ellos de manera estadísticamente significativa. Estos resultados coinciden con los nuestros, aunque la disminución de los linfocitos T no es tan significativa en nuestra serie.

Los resultados de nuestro estudio muestran depleción leucocitaria, linfocitaria y, de manera particular, disminución de los linfocitos B en su totalidad y porcentaje, lo que indica afectación muy centrada en esta serie celular (**Tabla 3**).

Los linfocitos T y B son los únicos componentes del sistema inmunitario que poseen una capacidad de reconocimiento específico frente al antígeno.

La disminución en número total y porcentaje de los linfocitos B tendría como consecuencia la disminución de la capacidad de sintetizar y secretar inmunoglobulinas específicas frente al antígeno, es decir anticuerpos, tal como lo describió Chatrath (166), con la consiguiente afectación de la inmunidad humoral, ya que estos linfocitos B, responsables de la inmunidad humoral, son identificados en el hígado fetal a las ocho semanas y son funcionales a las 12-13 semanas, con posibilidad de producir anticuerpos, de modo que los fetos de más de 16 semanas pueden producir una respuesta inmune total (10,92).

También hallamos en los neonatos de BPEG disminuidos los linfocitos T totales, al igual que Ferguson (169), S. Kiss (170) y Thomas RM. (209), con la consiguiente disminución de la inmunidad celular en este grupo de recién nacidos.

En nuestro estudio, hemos incluido variables clínicas que podrían condicionar probables deficiencias inmunitarias y hemos detectado que algunas de estas variables están asociadas con las subpoblaciones linfocitarias.

De éstas, la edad materna y la paridad se asocian a una afectación similar de todos los parámetros inmunológicos celulares, en ambos grupos de neonatos, tanto por separado como en conjunto, aunque las diferencias no siempre son estadísticamente significativas.

En los BPEG, a mayor edad materna hallamos disminución de los leucocitos, de los linfocitos totales y de los linfocitos CD8 totales e incremento de la ratio CD4/CD8 (**Tabla 4**).

En los neonatos PAEG tan solo disminuyen los linfocitos CD8 totales y su porcentaje (**Tabla 5**). En la misma situación de mayor edad materna en el conjunto de neonatos (BPEG mas PAEG), están disminuidos los leucocitos, los linfocitos totales y los linfocitos CD8 y, aumentado el cociente CD4/CD8 (**Tabla 6**).

El aumento del número de gestación, en los BPEG, se acompaña, en nuestro estudio, de disminución de los leucocitos, de los linfocitos totales y de los linfocitos CD8 totales, incrementándose la ratio CD4/CD8 (**Tabla 4**).

Mientras que en los PAEG sólo disminuyen los linfocitos CD8 y, aunque no de forma estadísticamente significativa, también su porcentaje (**Tabla 5**). Para el conjunto de neonatos, el aumento del número de gestación esta asociado a disminución de los linfocitos totales, linfocitos CD8 y aumento del cociente CD4/CD8 (**Tabla 6**).

Komlos L. y cols (213), publican en 1.989 un artículo sobre las poblaciones linfocitarias en la madre y el recién nacido (23 varones y 22 mujeres), en el cual correlacionan algunos grupos linfocitarios con el número de gestaciones. Hallan que con el incremento de la paridad disminuye el porcentaje de CD4 y CD8 en ambos sexos, con una diferencia significativa entre primípara y múltipara.

Los autores sugieren un posible papel del sexo del neonato y la paridad en la distribución de los subgrupos de linfocitos T, tanto en la madre como en el neonato.

En nuestro estudio, en lo referente a estos dos subgrupos CD4 y CD8, la afectación por la paridad recae en el subgrupo CD8 tanto en el número como en el porcentaje la diferencia con el estudio de Komlos y cols podría deberse a que nuestra muestra es mayor; la obtención de sangre fue inmediata al nacimiento mientras ellos la realizan entre 4 y 10 horas después; y los grupos de estudio, en nuestro caso, separados según la clasificación neonatal y en el suyo hecho en conjunto.

Edad materna y paridad son variables muy correlacionadas, por lo que no es posible discernir cuál es la variable realmente asociada a los hallazgos y cuál la variable cuyo efecto esta confundido.

Estos resultados hablan a favor de que el aumento de la edad materna y/o el número de gestación afecta a todos los grupos celulares, en especial a los linfocitos CD8; una afectación de la diferenciación celular posterior a la adquisición del desarrollo de la positividad exclusiva de los timocitos en CD4 y CD8, cuando las células ya no presentan la dualidad CD4 y CD8, sino que son sólo positivas para uno u otro grupo, entre la 11 y 12 semanas de la vida embrionaria (179).

La posible alteración de la inmunidad debida a la edad materna y/o al número de gestaciones puede deberse a que ambas variables clínicas afecten negativamente la vascularización uterina y por ello también los anejos fetales, e incluso a que la calidad estructural del útero disminuya con los años y/o el trabajo gestacional, como explica Chatrath (166) en la disminución de la IgG en los neonatos BPEG, por menor irrigación placentaria con las consecuencias anteriormente reseñadas (94-96), o Ferguson (169) que atribuye la depresión celular inmune al menor tamaño de órganos como el timo y el bazo. En el caso de los neonatos de BPEG, además se uniría la noxa causante del bajo peso.

Otras variables clínicas estudiadas como edad gestacional, peso de la placenta, Apgar al minuto y 5 minutos no se correlacionaron, en nuestro estudio, con variaciones en las poblaciones linfocitarias de los BPEG. La valoración de Apgar es una variable de presentación inmediata al parto y, por ello, sin tiempo para que pueda haber incidido en el sistema inmunológico.

Otros investigadores hallan diferencias en las poblaciones linfocitarias neonatales correlacionadas con el sexo del neonato. Así, Darlene Motley y cols (210) en muestras de sangre de cordón de 202 recién nacidos a término, utilizando citometría de flujo, hallan que los linfocitos T, el porcentaje de linfocitos CD4 y el cociente CD4/CD8 están más elevados en neonatos de sexo femenino; las células NK y los linfocitos CD8, en número y porcentaje, en los neonatos varones y todas estas diferencias fueron en su estudio estadísticamente significativas, coincidiendo con Lee BW. y cols (165) en los grupos de células NK y linfocitos CD4.

En nuestro estudio, coincidiendo con Uksila J. Y cols (215), no encontramos asociación entre el sexo del neonato y las variables clínicas ni inmunológicas, ni para el conjunto de neonatos (**Tablas 20,23**) ni en el análisis desagregado BPEG o PAEG (**Tablas 21,22,24,25**). Creemos que el sexo no condiciona cambios en las variables inmunológicas, concepto ampliamente generalizado.

En la forma de nacimiento, vaginal vs. cesárea, algunos investigadores han encontrado diferencias en los valores inmunológicos (212,216,217).

Chirico G. y cols (212) hallan más elevados los recuentos de leucocitos y neutrófilos en los nacidos por vía vaginal, mientras Gasparoni A. y cols (214) encuentran que el tipo de parto afecta fundamentalmente a las poblaciones de linfocitos B, que hallaron incrementados en los nacidos por cesárea, diferencias halladas también por Samelson R. y cols (211) y Pittard WB. y cols (217) mientras en los nacidos tras partos vaginales Krolak-Olejnik B. y cols (216) hallan significativa elevación de linfocitos CD8.

Todos concluyen que el modo de nacer afecta a los subgrupos linfocitarios en los nacidos a término.

También se han descrito variaciones en los leucocitos, en su número y función en relación con la forma de nacer, mayores en el nacimiento vaginal y en las cesáreas con trabajo de parto que en las cesáreas sin trabajo (218), y más altos los valores de los neutrófilos, los monocitos y las células NK en los nacidos por parto vaginal que en los nacidos por cesárea electiva y opinan que el trabajo de parto es un proceso inmunológicamente beneficioso para el neonato (219).

Por el contrario Banasik M. y cols (220) y Szymanska-Toczek y cols (221) hallan que los recién nacidos por cesárea electiva tienen más alta la actividad de los neutrófilos que los nacidos por vía vaginal y sugieren que esos cambios están asociados con el estrés del parto.

Lim FT. en 1.994 (222) y 2.000 (223) halla, en sangre de cordón umbilical, un incremento del número de granulocitos, CD34 y progenitores hematopoyéticos en las muestras procedentes de partos prolongados, con trabajo de parto aumentado y por tanto más estrés. Pafumi C. y cols (224) hallan el número de células CD34 similar en todos los neonatos con independencia de la forma de nacer. De Amici (225) publica variaciones en la actividad NK según el método de parto y uso de la anestesia en las cesáreas, general vs epidural; la actividad fue menor en las epidurales siendo similar en el parto vaginal y cesárea bajo anestesia general.

El hecho de enfatizar las posibles relaciones de los grupos linfocitarios con la forma del nacimiento es porque si éste influyera en los valores inmunológicos del neonato, habría de tenerse muy en cuenta en las decisiones sobre la vía de nacimiento dada la trascendencia de la inmunidad en la vida, y más en esta etapa inicial de la misma. Otro factor no menos importante sería la selección de los cordones umbilicales destinados a una futura utilización en los trasplantes alogénicos, hoy día de plena actualidad (226).

En nuestro estudio, realizado con población más numerosa y homogénea que los estudios anteriores, no hallamos diferencias en las variables inmunológicas estudiadas, asociadas a la forma del parto, nacimiento vaginal o por cesárea, en el estudio de ambos grupos, PAEG y BPEG, en conjunto (**Tablas 26,29**) y tampoco al realizar el análisis ajustado por la clasificación neonatal, BPEG y PAEG (**Tablas 27,28,30,31**).

Dado que en el grupo de nacidos por cesárea hay una mayor proporción de neonatos de BPEG, parte de las diferencias observadas en los anteriores estudios publicados podrían ser atribuidas a ello; por tanto, sería necesario repetir en esos estudios el análisis de los datos ajustándose a la clasificación neonatal y referirlos específicamente a neonatos de BPEG.

Hay también investigadores que publican variaciones inmunológicas asociadas al peso.

Chatrath R. (166) halla, en los neonatos BPEG, valores significativamente más bajos del porcentaje de CD4 y de la ratio CD4/CD8 en los de peso menor de 2.000 g. respecto a los de peso superior a 2.000 g.

Kumar A. y cols (68) hallan diferencias para los linfocitos T según el peso sea inferior a 2.000 g. frente a los de peso igual o superior a 2.500 g.

En nuestro caso, los valores inmunológicos estudiados en neonatos BPEG de peso menor de 2.000 g. frente a los de peso igual o mayor de 2.000 g. no presentan diferencias significativas (**Tabla 33**).

Creemos que los resultados distintos obtenidos por ellos, respecto a los nuestros, se deben a las diferencias entre los neonatos que pesan más o menos de 2.000 g. y se estudian en conjunto, en cuyo caso en el grupo de menor peso el porcentaje de neonatos de BPEG es muy superior.

Por todo lo anteriormente expuesto y teniendo en cuenta la ontogénesis celular, todo indica que en los neonatos de BPEG la afectación de la linfopoyesis es distinta en los diferentes tipos celulares. Tanto las células B como las T y las NK comparten inicialmente el mismo origen en el tallo coriónico y migran al hígado fetal donde coinciden entre la 7ª y la 9ª semana. Posteriormente emigran a los órganos linfocitarios primarios, principalmente la médula ósea (origen de las células B y de la mayoría de las NK) y timo (células T), y después a los órganos linfoides secundarios, amígdalas, bazo, ganglios linfáticos y apéndice.

Parece que la afectación en la médula ósea a partir de la 9ª semana, en que la hematopoyesis de la serie linfoide esta activa en ella (15), podría ser la principal causante de estos déficit inmunológicos, alterando en dicho nicho celular la hematopoyesis y especialmente el microambiente específico para la génesis de las células B, ya que son las afectadas tanto en número como en porcentaje.

Sí el efecto nocivo lo fuera sobre los órganos como estructura, (tallo coriónico, saco vitelino, hígado fetal), estarían afectadas de la misma forma todas las series celulares, principalmente la eritroide y mieloide que son las más numerosas y primeras en la evolución genética. Nos encontraríamos entonces con una afectación pareja de los linfocitos T, linfocitos B, células NK, granulocitos, plaquetas y sobre todo de los eritrocitos, que son los primeros en aparecer y los más numerosos. La policitemia que suelen presentar los BPEG (134) esta en contra de la afectación de los precursores.

El tamaño del timo esta disminuido en los neonatos de BPEG, pues hay una relación peso corporal y tímico, y sin embargo los linfocitos T no están tan afectados (227,228) como los linfocitos B.

También se sabe que en los neonatos BPEG los órganos de menor consumo de O₂, hígado y timo entre ellos, tienen su peso reducido (174-176) y por tanto si aquí actuara la noxa estarían los precursores en general (hígado) y los linfocitos T en particular (timo) más afectados que los linfocitos B (médula ósea).

Pese a tener los mismos orígenes que las células T y B y pese a que algunas de sus subpoblaciones presentan antígenos de células T (CD2 y CD8), que sugiere una génesis paralela, las células NK, como los linfocitos T, están afectados con una disminución de su número total pero no estadísticamente significativa.

Aunque llamativo, es conocido que aquellos que presentan déficit de las células T y B tienen a menudo un gran número de células NK, y aquellos que carecen de células NK pueden tener un desarrollo normal tanto de las células T como de las B (229).

Esto contribuye a corroborar que la afectación, aunque lo es sobre todas las series linfoides, es preferentemente del microambiente inductor de la diferenciación específica del desarrollo de las células B, si bien se desconocen actualmente los componentes celulares y humorales que lo integran (174).

También hemos de tener en cuenta la placenta y su íntima relación con el feto, ya que ambos desarrollos guardan una relación directa. En condiciones normales el crecimiento placentario precede al crecimiento fetal y el crecimiento insuficiente de la placenta conduce directamente a un menor crecimiento fetal por disminución del transporte placentario de nutrientes (94). Además, la llegada insuficiente de nutrientes a la placenta conduce a una menor producción placentaria de factores y hormonas de crecimiento, tanto de la placenta como del feto, lactógeno placentario, IGF fetal etc. (97,98) y como esta reseñado que los BPEG tienen menos células (148) es posible que factores placentarios que no conocemos hoy puedan influir en esta disminución celular, afectando por ello también a las series celulares sanguíneas.

Hemos de tener presente que el entorno fetal puede ser determinante en las variaciones inmunológicas del neonato, máxime teniendo presente que incluso si la polución atmosférica puede mediar en la distribución de los fenotipos linfocitarios del feto (230), más posible será lo haga su propio entorno.

Estos hallazgos pueden explicar la deficiente inmunidad de los neonatos BPEG y ayudan a entender el origen de su mayor predisposición a la infección.

Pero queremos apuntar que, nuestros datos sugieren que la serie mieloide también esta afectada, dado que la diferencia en los valores de los leucocitos en los BPEG frente a los neonatos PAEG no se explica totalmente por el descenso del número de linfocitos (Tabla 3).

Seria necesario el estudio de esta serie en neonatos BPEG, para saber como participa su progenie en la disminución leucocitaria.

Nuestros resultados sugieren que el motivo de estas variaciones inmunológicas no es la falta de ganancia ponderal en sí misma, que conduce a un neonato a ser BPEG, sino que las causas etiológicas que dan lugar a la no ganancia de peso alteran también la inmunidad y que variables clínicas como la edad materna y/o el número de gestación, o ambas de manera independiente, pueden magnificar estas alteraciones que son las que explicarían una mayor susceptibilidad a las infecciones de los neonatos BPEG en comparación con el grupo de neonatos de PAEG.

Los recién nacidos BPEG son un grupo diferente de los neonatos PAEG, no solo en las características físicas, clínicas, evolución, patología asociada etc. sino también probablemente en la inmunidad

6. CONCLUSIONES

El recién nacido de BPEG presenta, en comparación con el recién nacido de PAEG, una depresión de la inmunidad, tiene disminución de los leucocitos totales, linfocitos totales y de los linfocitos B tanto en su totalidad como en el porcentaje.

La edad materna parece influir en la inmunidad pues a mayor edad materna hay disminución de los leucocitos, linfocitos totales y linfocitos CD8 totales y aumento del cociente CD4/CD8 en los neonatos BPEG.

La paridad parece influir en la inmunidad de los neonatos BPEG, ya que al aumentar el número de gestación disminuyen leucocitos, linfocitos totales y linfocitos CD8 totales con lógico incremento de la ratio CD4/CD8.

Parece haber una afectación más específica de la médula ósea y en especial del microambiente inductor de los linfocitos B.

No es la falta de ganancia de peso en sí misma la responsable de la afectación en las variables inmunológicas estudiadas.

Todo ello sugiere que probablemente los mismos factores que inducen a un BPEG también alteran la inmunidad.

7. BIBLIOGRAFIA

- 1- Meirion B Llewelyn; Robert E Hawkins; Stephen J Russell. Monoclonal Antibodies in Medicine. Discovery of antibodies. BMJ 1992 November; 305(21):1269-1272.
- 2- G. Köhler and C. Milstein. "Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity". Nature 1975. 256:495-497.
- 3- Roitt IM, Delves PJ. Essential Immunology. 10th ed. 2001 Blackwell Science Ltd, London. UK.(Panamericana ed.).
- 4- Lawrence J. Stern y Don C. Wiley Antigenic peptide binding by class i and class ii histocompatibility proteins. En Structure, abril 15 1994; vol 2:245-251.
- 5- Victor H. Engelhard. Structure of peptides associated with class i and class ii mhc molecules. AnnualReview of Immunology, 1994; vol 12:181-207.
- 6- Sur la lutte des cellules de l'organisme contre l'invasion des microbes. Ann. Inst. Pasteur. Paris. 1887. 1, p.321-336.
- 7- Lectures on Phagocytosis and Immunity. Delivered at the Pasteur Institut. Dec 29, 1890. Brit Med. J., 1,pp.213-217.
- 8- Gallart T, Vives J. Órganos y células del sistema inmunitario. En Medicina Interna. Farreras – Rozman. 13^a Edición. Vol II. 2411-2417 Edit. Mosby/Doyma. 1995
- 9- Luis Madero Lopez, Arturo Muñoz Villa. Hematología y Oncología Pediátricas. Pag. 9-13.Edit. Ergon S.A.1997.
- 10- Durandy A. Developpement du systeme immunitaire. Pathol-Biol-Paris. 1992 Sep; 40(7):685-689
- 11- Carlson Bruce M. Embriología básica de Patten. 5^a ed. McGraw-Hill Interamericana. 2000; p. 159-563.
- 12- S. Woessner, L. Florensa. Citología óptica en el diagnóstico hematológico.. Pag. 1- 8. 4^a edición. Edit. FEHH. 2000.
- 13- Gasparoni A, Ciardelli L, Avanzini MA, Bonfichi M, Di Mario M, Piazzzi G, Rondini G, Chirico G. Immunophenotypic changes of fetal cord blood hematopoietic progenitor cells during gestation. Pediatric Research 2000 Jun; 47(6):825-829.
- 14- Panaro A; Amati A; di-Loreto M. Lymphocyte subpopulations in pediatric age. Definition of reference values by flow cytometry. Allergol-Immunopathol-Madr. 1991 May-Jun; 19(3):109-112.

15- Manuela Tavian, Fernando Cortés, Pierre Charbord, Bruno Peault. Emergence of the haematopoietic system in the human embryo and foetus. *Haematologica*; 84:1-3; 1999.

16- Haynes BF, Hale LP. The human thymus. A chimeric organ comprised of central and peripheral lymphoid components. *Immunol Res* 1998; 18(3):175-192.

17- Varas A, Jimenez E, Sacedon R, Maroto E, Vicente A. Analysis of the human neonatal thymus: evidence for a transient thymic involution. *J Immunol* 2000 Jun 15; 164(12):6260-6267.

18- Ramsdell F, Jenkins M, Dinh Q, Fowlkes BJ. The majority of CD4+8-thymocytes are functionally immature. *J Immunol* 1991 Sep 15; 147(6):1770-1785.

19- Bendelac A. Scharz RH. CD4+ and CD8+ T cells acquire specific lymphokines secretion potentials during thymic maturation. *Nature* 1991 Sep 5; 353(6339):68-71.

20- Adkins B. Developmental regulation of the intrathymic T cell precursor population. *J Immunol*. 1991 Mar 1; 146(5):1387-1393.

21- MacLean LD, Zak SJ, Varco RL, Good RA. Thymic tumor and adquired agammaglobulinemia: a clinical and experimental study of immune response. *Surgery* 1956; 40:1010-1017.

22- Gernot Stuhler; Peter Walden. Collaboration of helper and cytotoxic T lymphocytes. *Eur J Immunol* 1993; 23:2279-2286.

23- Royer HD; Reinherz EL. T lymphocytes: ontogeny, function, and relevance to clinical disorders. *N Engl J Med*. 1987; 317:1136-1142.

24- Giorgi JV; Fahei JL. Early effects of HIV on CD4 lymphocytes in vivo. *J Immunol*. 1987; 138:3725-3730.

25-Tosato G, Magrat IT, Koski R, Dooley NJ, Blaese RM. B cell differentiation and immunoregulatory T cell function in human cord blood lymphocytes. *J Clin Invest*. 1980; 66:383-388.

26- Durandy A, Fiher A. Active supression of B lymphocyte maturation by two different newborn T lymphocyte subsets. *J Immunol* 1979 Dec; 123(6):644-650.

27- Bradley LM, Bradley JS. Predominance of T cells that express CD45R in the CD4 helper/inducer lymphocyte of neonates. *Clin Immunol Immunophatl*. 1989 Jun; 51(3):426-435.

28- Coon JS, Landay AL, Weinstein RS. Biology of disease:advances in flow cytometry for diagnostic pathology. *Lab Invest*. 1987 Nov; 57(5):453-479.

29- Jovin TM, Arndt-Jovin DJ. Cell separation using fluorescence emission anisotropy. *Trends in Biochem. Prog Clin Biol Res* 1976; 9:123-136.

- 30- Lovett EJ, Schnitzer B, Keren DF, Flint A. Application of flow cytometry to diagnostic pathology. *Lab Invest.* 1984; 50(2):115-140.
- 31- Shapiro MM. Practical flow cytometry. *Rev. Sci. Instrm.* 1984; 55:1375-1382.
- 32- Steinkamp JA. Flow cytometry. *Rev. Sci. Instrm.* 1984; 55:1375-.
- 33- Pietruczuk M, Wasiluk A, Jaworski S, Dabrowska M. Flow cytometric analysis of cord blood lymphocytes. *Ginekol Pol* 1998 Apr; 69(4):182-187.
- 34- Claudio Ortolani, Ermenegildo Forti, Eligio Radin, Roberto Cibir, Andres Cossarizza. Cytofluorometric identification of two populations of double positive (CD4+,CD8+) T lymphocytes in human peripheral blood. *Biochemical and Biophysical Research Communication.* 1993 March 15; 191(2):601-609.
- 35- D'Areña G, Musto P, Cascavilla N, Fusilli Z, Carotenuto M. Flow cytometric characterization of human umbilical cord blood lymphocytes: immunophenotypic features. *Haematologica* 1998 Mar; 83(3):197-203.
- 36- Westermann J.; Pabst R. Distribution of lymphocyte subsets and natural killer cells in the human body. *Clin Investig* 1992; 70:539-544.
- 37- Osugi Y; Hara J; Kurahasi H; Sakata N; Yumura Yagi K; Okada S. Age-related changes in surface antigens on peripheral lymphocytes of healthy children. *Clin Exp Immunol* 1995; 100:543-548.
- 38- Erkeller Yuksel FM; Deneys V; Yuksel B; Hannel I; Hultaert F; Hamilton C; Mackinnon H; Stokes LT; Munhyeshuli V al. Age-related changes in human blood lymphocyte subpopulations. *J Pediatr.* 1992 Feb; 120(2 Pt1):216-222.
- 39- Uksila J. Lassilla O. Hirvonen T, Toivanen P. Development of natural killer cell function in the human fetus. *J Immunol* 1983; Jan; 130(1):153-156.
- 40- Lanier LL; Phillips JH. Natural Killer Cells. *Curren Opin Immunol* 1992 Feb; 4(1):38-42.
- 41- Lanier LL; Phillips JH. - Natural Killer Cell: Definition of a cell type rather than a Function. *J Immunol* 1986; 137:2735-2739.
- 42- Trinchieri G; Jackson A. Biology of Natural Killer Cells. *Adv Immunol* 1989; 47:187-376.
- 43- Abo T; Miller CA; Gartland GL; Balch CM. Differentiation stages of human natural killer cells in lymphoid tissues from fetal to adult life. *J Exp Med* 1983 Jan 1; 157(1):273-284
- 44- Slukvin II; Chernishov VP. Two-color flow cytometric analysis of natural killer and cytotoxic-T-lymphocyte subsets in peripheral blood of normal human neonates. *Biol Neonate* 1992; 61(3):156-161.

- 45- Montagna D, Maccario R, Ugazio AG, Burgio GR. Natural cytotoxicity in the neonate: high levels of lymphokine activated killer (LAK) activity. *Clin Exp Immunol*. 1988 Jan; 71(1):177-181.
- 46- Kaplan J. Shope TC. Bollinger RO, Smith J. Human newborns are deficient in natural killer activity. *Clin Immunol* 1982 Oct; 2(4):350-355.
- 47- Kaminski P, Skopinska Rozewska E, Marianowki L, Radomska M, Relationship between decreased activity of NK cells in umbilical cord blood and infection incidence in children. *Wiad Lek* 1994 Feb; 47(3-4):103-106.
- 48- Baley JE; Schacter BZ. Mechanisms of diminished natural killer cell activity in pregnant women and neonates. *J Immunol* 1985 May; 134(5):30 42-3048.
- 49- Mezt O, Thanhardt H, Zwacka G, Plenert W. Nonspecific killer cells in premature and mature neonates and infants. *Folia Haematol Int Klin Morphol Blutforsch*. 1984; 111(5): 581-588.
- 50- Hallberg A. Malmstrom P. Natural killer cell activity and antibody-dependent cellular cytotoxicity in newborn infants. *Acta Paediatr Scand* 1982 May; 71(3):431-436.
- 51- Ballas ZK, Rasmussen VL, Albert CA, Sandor M. Ontogeny of thymic NK1.1+cells. *J Immunol*. 1997 Aug 1; 159(3):1174-1181.
- 52- Ritz J. The role of natural killer cells in immune surveillance. *N Engl J Med* 1989 Jun; 320(26):1748-1749.
- 53- Garcia Peñarrubia P; Koster FT. Antibacterial activity of human natural killer cells. *J Exop Med* 1989; 169:99-113.
- 54- Response to Virus Infections in mice with Severe Combined Immunodeficiency. The Stimulation of NK Cell and NK cell-dependent. *J Exp Med* 1991; 173:1053-1063.
- 55- Toder V; Durdana-A; Elrad H; Gleicher N. Natural Killing potential of cord blood lymphocytes.. *J Clin Lab Immunol* 1985 May; 17(1):29-32.
- 56- Ching CY, Chin N, Seto DS, Hokama Y. Relationships of prostaglandin levels and natural killer (NK) cell cytotoxicity of mononuclear cells in cord blood. *J Med* 1984; 15(3):233-236.
- 57- Kotiranta Ainamo A, Apajasalo M, Pohjavuori M, Rautonen J. Mononuclear cell subpopulations in preterm and full-term neonates: independent effects of gestational age, neonatal infection, maternal pre-eclampsia, maternal betamethason therapy, and mode of delivery. *Clin Exp Immunol* 1999 Feb; 115(2):309-314.
- 58- Hamood M, Corazza F, Bujan-Boza W, Sariban E, Fondu P. Natural killer (NK) cells inhibit human umbilical cord blood erythropoiesis. *Exp Hematol* 1995 Oct; 23(11):1187-1191.

- 59- Sommer A; Tarwotjo I; Hussaini G; Susanto D. Increased mortality in children with mild vitamin A deficiency. *Lancet* 1983; ii:585-588.
- 60- Sommer A; Tarwotjo I; Djunaedi E. A supplementation on childhood mortality: a randomised controlled community trial. Impact of vitamin. *Lancet* 1986; i:1169-73.
- 61- Richard D.Semba; Brian G. Ward; Diane E. Griffin; Alan L. Scott; Gantira Natadisastra; Keith P. West Jr. Abnormal T-cell subset proportions in vitamin-A-deficient children. *Lancet* 1993 Jan; 341(2):5-8.
- 62- Osugi Y; Hara J. Age-related changes in surface antigens on peripheral lymphocytes of healthy children. *Clin Exp Immunol* 1995; 100:543-548.
- 63- Prindull G, Prindull B, Palti Z, Yoffey. Phagocytic cells in cord blood. *JM. Biol Neonate*. 1975; 27(5-6):318-328.
- 64- Prindull G, Prindull B, Ron A, Yoffey JM. Cells in spontaneous DNA synthesis in cord blood of preterm and full-term newborn infants. An autoradiographic study. *J Pediatr*. 1975 May; 86(5):773-778.
- 65- Prindull G, Prindull B, Schroter, Yoffey JM. Comparison of RNA and DNA synthesis, spontaneous and PHA induced between blood lymphoid cells of newborn infants, older infants, and adults. A study of scintillation counting and by autoradiography. *Eur J Pediatr*. 1977 Nov 4:126(4):243-252
- 66- Schultz C, Reiss I, Bucsky P, Göpel W, Gortner L. Maturation Changes of Lymphocyte Surface Antigens in Human Blood: Comparison between Fetuses, Neonates and Adults. *Biology of the Neonate*. 2000;78:77-82.
- 67- Fallon M, Insel R. Alterations in helper-inducer and suppressor-inducer-T-cell subsets in human neonatal blood. *Immunology* 1988 Oct; 65(2):323-325.
- 68- Kumar A, Jauhart P, Sing U, Singla PN. Quantitation of T cells in venous blood of healthy neonates. *Indian J Pediatr* 1994 Nov-Dec; 61(6):711-714.
- 69- Le Caer F, Tubiana N, Sampol J, Carcassonne Y. Lymphocyte phenotyping in the cord blood of newborn infants. *Pathol Biol* 1987 Feb; 35(2):184-186.
- 70- Calado RT, Garcia AB, Falcao RP. Age-related changes of immunophenotypically immature lymphocytes in normal human peripheral blood. *Cytometry* 1999 Jun; 15;38(3):133-137.
- 71- Griffiths Chu S, Patterson JA, Berger CL, Edelson RL, Chu AC. Characterization of immature T cell subpopulations in neonatal blood. *Blood* 1984 Jul;64(1):296-300.
- 72- Rainaut M; Paigniez M; Hercend T; Daffos F; Forestier F. Characterization of mononuclear cell subpopulations fetal peripheral blood. *Human Immunol* 1987 Apr; 18(4):331-337.
- 73- Juretic E, Uzarevic B, Tkaleevic T, Vukelic V. Analysis of lymphocyte immunophenotypes in neonates. *Lijec Vjesn* 1999 Nov-Dec; 121(11-12):338-341.

- 74- Schelonka RL; Raaphorst FM. Infante D. T cell receptor repertoire diversity and clonal expansion in human neonates. *Pediatric Research* 1998 Mar; 43(3):396-402.
- 75- Lee BW; Yap HK; Chew FT; Quah FT; Wong SC; Seah CC. Age-and-sex related changes in lymphocyte subpopulations of healthy Asian subjects: from birth to adulthood. *Cytometry* 1996 Mar; 15; 26(1):8-15.
- 76- Smith CA. *The physiology of the newborn infant*. Sfield, IL: Charles C Thomas, 1945.
- 77- Clifford S. Postmaturity with placental dysfunction. Clinical syndrome and pathologic findings. *J Pediatrics*. 1954 Jan; 44(1):1-13.
- 78- Warkany J, Monroe BB, Sutherland BS. Intrauterine growth retardation. *Am J Dis Child*. 1961 Aug; 102:249-279.
- 79- Lubchenco LO, Hausman C, Boyd E. Intrauterine growth in length and head circumference as estimated from live births at gestational ages from 26 to 42 weeks. *Pediatrics* 1966 Mar; 37(3):403-408.
- 80- Gruenwal P. Growth of the human fetus. I. Normal growth and its variation. *Am J Obstet Gynecol*. 1966 Apr 15; 94(8):1112-1119.
- 81- Intrauterine growth retardation. *Proc 2nd Europ Congr Perinatal Medicine*. pag. 238. London 1970.
- 82- Dubowitz L, Dubowitz V, Goldberg C. Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *J Pediatrics*. 1970 Jul; 77(1):1-10.
- 83- Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatrics* 1991 Septiembre; 119 (3):417-423.
- 84- Spira A, Spira N, Goujard J, Schwartz D. Smoking during pregnancy and placental weight. A multivariate analysis on 3756 cases. *J Perinat Med*. 1975; 3(4):237-241.
- 85- Alfonso Ortiz T, Alonso Ortiz J, Carrasco de la Peña JL, Roman Santamaria J, Arizcun Pineda J. Estudio perinatólogico del recién nacido con bajo peso al nacimiento. *Acta Ginecol*. 1979; 34(9):301-306.
- 86- Gruenwald P. Infant of low birth weight among 5.000 deliveries. *Pediatric*. 1964 Aug; 34:157-162.
- 87- Waeker J. Small-for-dates clinical aspect. *Proc R Soc Med*. 1967 Sep; 60(9):877-879.
- 88- R.S. Galbraith; E.J. Karchmar; W.N. Piercy. The clinical prediction of intrauterine growth retardation. *Am. J. Obstet. Gynecol* 1979; 133(3):281-286.

- 89- Cliver SP, Goldenberg RL, Cutter GR, Davis RO, Nelson KG. The effect of cigarette smoking on neonatal anthropometric measurements. *Obstet Gynecol* 1995 Apr; 85(4):625-630.
- 90- Goldenberg RL, Cliver SP, Cutter GR, Hoffman HJ, Wen SW. Blood pressure, grow retardation, and preterm delivery. *Int J Technol Assess Health Care* 1992; 8 Suppl 1:82-90.
- 91- Milner RDG, Gluckman PD. Regulation intrauterine growth. In: Gluzman PD, Heyman MA, eds. *Pediatrics&perinatology: The scientific basis*, 2nd ed. London Arnold 1993; 284-307.
- 92- Marianne S. Anderson y William W. Hay. en *Neonatología. Fisiopatología y manejo del recién nacido*. Gordon B. Avery, Mary Ann Fletcher, Mhairi G. McDonald. Retardo del crecimiento intrauterino y el neonato pequeño para la edad gestacional. Edit Panamericana. 5ª Edición. Capítulo:25; pag:418-430.
- 93- Hay W W Jr. Glucose metabolism in the fetal-placental unit. In: Cowett RN, ed. *Principles of perinatal-neonatal metabolism*, 2nd ed. NewYork: Springer-Verlag. 1998; 337-352.
- 94- Owens JA, Falconer J, Robinson JS. Effect of restriction of placental growth on fetal and utero-placental metabolism. *J Dev Physiol* 1987 Jun; 9(3):225-238.
- 95- Nylund L, Lunell NO, Lewander R, Sarby B. Uteroplacental blood flow index in intrauterine grow retardation of fetal or maternal origin. *Br J Obstet Gynecol* 1983 Jan; 90(1):16-20.
- 96- Macara L, Eingham JC, Kaufman P. Structural analysis of placental terminal villi from grow-restricted pregnancies with abnormal umbilical artery Doppler waveforms. *Placenta* 1996 Jan; 17(1):37-48.
- 97- Handwerger S. Clinical counterpoint: the physiology of placental lactogen in human pregnancy. *Endocr Rev* 1991 Nov; 12(4):329-336.
- 98- Freemark M, Handwerger S. The role of placental lactogen in the regulation of fetal metabolism. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1989 Apr; 8(3):281-283.
- 99 Lumey LH. Decrease birthweights in infants after maternal in utero exposure to the Dutch famine of 1944-1945. *Paediatric Perinat Epidemiol* 1992 Apr; 6(2):240-253.
- 100- Antonov AN. Children born during the siege of Leningrad in 1942. *J Pediatrics* 1947; 30:250-259.
- 101- Stein Z, Susser M, Rush D. Prenatal nutrition and birth weight: experiments and quasi-experiments in the past decade. *J Reprod Med* 1978 Nov; 21(5):287-289.
- 102- Hickey CA, Cliver SP, Kohatsu J, Hoffman HJ. Prenatal weight gain, term birth weight, and fetal growth retardation among high-risk multiparous black and white woman. *Obstet Gynecol* 1993 Apr; 81(4):529-535.

103- Wennergren M, Wennergren G, Vilbergasson G. Obstetric characteristics and neonatal performance in a four-year small for gestational age population. *Obstet Gynecol* 1988 Oct; 72(4):615-620.

104- Thureen PJ, Trembler KA, Makowski EL, Wilkening RB. Placental glucose transport in heat induced fetal growth retardation. *Am J Physiol* 1992 Sep;263(3 Pt 2):R578-585.

105- Marconi AM, Cetin I, Davoli E. An evaluation of fetal gluconeogenesis in intrauterine growth retarded pregnancies. *Metabolism* 1993 Jul; 42(7):860-864.

106- Ross JC, Fennessey PV, Battaglia FC, Meschia G. Placental transport and fetal utilization of leucine in a model of fetal growth retardation. *Am J Physiol* 1996 Mar; 270(3 Pt 1):E491-503.

107- Milley JR. Effects of insulin on ovine fetal leucine kinetics and protein metabolism. *J Clin Invest* 1994 Apr; 93(4):1616-1624.

108- Townsend SF, Brigg KK, Carver TD, Wilkening RB. Altered fetal liver and kidney insulin-like growth factor II mRNA in the sheep after chronic maternal glucose or nutrient deprivation. *Clin Res* 1992; 40-91A

109- B. Anderson GD. Pregnancy outcome of intensive therapy in severe hypertension in first trimester. *Obstet Gynecol* 1986 Apr; 67(4):517-522.

110- Novy MJ, Peterson EN, Metcalfe J. Respiratory characteristics of maternal and fetal blood in cyanotic congenital heart disease. *Am J Obstet Gynecol* 1968 Mar15; 100(6):821-828.

111- Ljchty JA, Ting RY, Bruns PD, Dyar E. Studies of babies born at high altitude. *A J Dis Chil* 1957 Jun; 93(6):666-669.

112- Brown AK, Sleeper LA, Pegelow CH, Gill FM, Waclawisn MA. The influence of infant and maternal sickle cell disease on birth out come and neonatal course. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1994 Nov; 148(11):1156-1162.

113- Goldenberg RL, Davis RO, Nelson KG. Intrauterine growth retardation. In: Merkatz IR, Thompson JE, Mullen PD, Goldenberg RL. Eds. *New perspectives on prenatal care*. New York: Elsevier. 1990; 461-473.

114- Abel EL. Consumption of alcohol during pregnancy: a review of effects on growth and development of offspring. *Hum Biol.* 1982 Sep; 54(3):421-453.

115- Woods JR Jr, Plessinger MA, Clark KE. Effect of cocaine on uterine blood flow and fetal oxygenation. *JAMA* 1986 Feb 20; 257(7):957-961.

116- Yau KIT, Chang MH. Growth and body composition of preterm, small for gestational age infants at a postmenstrual age of 37-40 weeks. *Early Hum Dev* 1993 Jun; 33(2):117-131.

117- Retraso del crecimiento intrauterino. 18º Seminario de Nutrición. Rio de Janeiro, 25-28 de Marzo. Brasil. 1987.

- 118- Notake, Yukio, ed.; Kotaro Suzuki M. Aspectos biológicos y clínicos del feto. Crecimiento fetal y medio intrauterino. Barcelona. Salvat, 1980; 277 p. (isbn 84-345-1685-3)
- 119- Schauseil-Zipf U, Hamm W, Stenzel B, Gladtko E. Severe intrauterine growth retardation: obstetrical management and follow up studies in children born between 1970 and 1985. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1989; 30:1-9.
- 120- Karahasanoglu O, Karatekin G, Kose R, Nuhoglu A. Hypoglycemia in small-for-gestational-age neonates. Turk J Pediatr 1997 Apr-Jun; 39(2):159-164.
- 121- Giorgio Pardi, Irene Cetin, Patrizia Bozetti, Frederick C. Battaglia. Diagnostic value of blood sampling in fetuses with growth retardation. N Engl J Med 1993 March 11; 328(10):692-696.
- 122- Arduini D, Rizzo G, Romanini C. The development of abnormal heart rate patterns after absent end-diastolic velocity in umbilical artery: analysis of risk factors. Am J Obstet Gynecol 1993 Jan; 168(1 Pt 1):43-50.
- 123- Karsdorp VH, vanVugt JM, van Geijn HP, Arduini D, Montenegro N, Todros T. Clinical significance of absent or reversed end diastolic velocity waveforms in umbilical artery. Lancet 1994 Dec 17; 344 (8938):1664-1668.
- 124- Valcamonico A, Danti L, Frusca T Absent end-diastolic velocity in umbilical artery: risk of neonatal morbidity and brain damage. Am J Obstet Gynecol 1994 Mar; 170(3):796-801.
- 125- Gruenwal P. N Y State. Abnormalities of placental vascularity in relation to intrauterine deprivation and retardation of fetal growth. Significance of vascular chorionic villi. J Med. 1961 May 1; 61:1508-1513.
- 126- Sheppard B, Bonnar J. Pathology of the utero-placental vessels and poor intrauterine fetal growth. E. "Poor intrauterine fetal growth". Ed. B. Salvadori. A. Bacchi. pag. 171. Parma. 1977.
- 127- Künzel W. The utero-placenta blood flow in poor intrauterine fetal growth. En "Poor intrauterine fetal growth" Ed. B. Salvadori. A. Bacchi pag. 183. Parma 1977.
- 128- Althabe O, Labarrere C. The placenta of the small for gestational age infant of unknown etiology. Prog Clin Biol Res. 1982; 112 Pt B:227-238.
- 129- Harding JE, Johnston BM. Nutrition and fetal growth. Reprod Fertil Dev 1995; 7(3):539-547.
- 130- Gruenwal P, Funakawa H, Mitani S, Nishimura T, Takeuchi S. Influence of environmental factor on foetal growth in man. The Lancet. 1967 May 13; 1(7498):1026-1028.

- 131- Lugo G, Cassady G. Intrauterine grow retardation: Clinicopathologic findings in 233 consecutive infants. *AM J Obstet Gynecol.* 1971 Feb15; 109(4):615-622.
- 132- Karlberg J, Albertsson-Wikland K. Growth in Full-Term Small-For-Gestational-Age Infants: From Birth to Final Height. *Pediatric Research* 1995; 38(5):733-739.
- 133- Papaevangelou G, Papadatos C, Alexiou D. Perinatal mortality and morbidity in "small-for-dates" newborns. *Helv. Paediat. Acta* 1972; 27:415-424.
- 134- Toth P, Pecsí Z, Horvarth I, Mehes K. - Physical growth of children born small for gestational age. *Acta Paediatr Acad Sci Hung* 1978; 19(2):99-104.
- 135- Ashworth A. Effects of intrauterine growth retardation mortality and morbidity in infant and young children. *Eur J Clin Nutr.* 1998 Jan; 52(Suppl1):34-42.
- 136- Lubchenko LO, Searls DT, Brazie J. Neonatal mortality rate: relationship to birth weight and gestational age. *J Pediatr* 1972 Oct; 81(4):814-822.
- 137- Butler NR, Alberman ED. Second report of the 1958 British Perinatal Mortality Survey, pp.47-71. *Perinatal Problems: Edimbrgh, E and S Livingstone.* 1969.
- 138- Low JA, Galbraith RS, Muir D. Intrauterine growth retardation. A preliminary report of long-term morbidity. *Am.J Obstet Gynecol* 1978; 30:534-545.
- 139- Sciscione AC, Gorman R, Callan NA. Adjustment of birth weight standards for maternal and infant characteristics improves the prediction of outcome in the small-for-gestational-age infant. *Am J Obstet Gynecol* 1996 Sep;175(3 Pt1):544-547.
- 140- Piper JM, Xenakis EMJ, McFarland M, Elliot BD, Berkus MD. Do growth-retarded premature infant have different rates of perinatal morbidity and mortality than appropriately grown premature infants?. *Obstet Gynecol* 1996 Feb; 87(2):169-174.
- 141- Namgung R, Tsang RC, Specker BL. Reduced serum osteocalcium and 1,25 dihydroxyvitamin D concentration and low bone mineral content in small for gestational age infants:evidence of decreased bone formation rates. *J Pediatr.* 1993 Feb; 122(2):269-275.
- 142- Lapillonne A, Braillon P, Claris O, Chatelain PG, Delmas PD, Salle BL. Body composition in appropriate and in small for gestational age infants. *Acta Paediatr* 1997 Feb; 86(2):196-200.
- 143- Shelley HJ. Glycogen reserves and their changes at birth. *Br Med Bull.* 1961; 17:127-137.

144- Barker DJ. Fetal nutrition and cardiovascular disease in later life. Br Med Bull 1997; 53(1):96-108.

145- Barker DJ. Gluckman PD. Godfrey KM. Owens JA. Robinson JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. Lancet 1993; 341(8850): 938:941.

146- Snijders RJ. Abbas A. Melby O. Nikolaides KH. Fetal plasma erythropoietin coccentration in severe growth retardation. Am J Obstet Gynecol 1993; 168(2):615-619

147- Metcoff J, Witman-Coffelt J; Morales M. Energy metabolism and protein synthesis in human leukocytes during pregnancy and in placenta related to fetal growth.. Pediatric 1973 May; 51(5):866-877.

148- Rosado A, Bernal A. Human grow fetal retardation, III. Protein, DNA, RNA, adenine nucleotides and activities of the enzymes piruvic and adenylate kinase in placenta.Pediatric 1972 Oct; 50(4):568-577.

149- Tremblay PC; Sybulski S, Maughan GB. - Role of the placenta in fetal malnutrition. Am J Obstet Gynecol 1965 Mar1; 91:597-605.

150- Cellular grow in human placenta,I,Normal placental grow. Winick M, Noble A. Pediatrics 1967 Feb; 39(2):248-251.

151- Winick M. Cellular changes during placental and fetal growth. Am J Obstet Gynecol 1971 Juan1; 109(1):166-176.

152- Winick M. Cellular grow of human placenta, III, intrauterine growth failure. J Pediatr. 1967 sep; 71(3):390-395.

153- Dayton DH, Filer LJ, Canosa C. Cellular changes in the placentas of undernourished mothers in Guatemala. Fed Proc 1969; 28:488-493.

154- Chase HP; Welch NN; Dabiere CS; Butterfield LJ. Alterations in human brain biochemistri following intrauterine grow retardation. Pediatrics 1972 Sep; 50(3):403-411 .

155- Vasan NS; Chase HP. Brain glycosaminoglycans (mucopolysaccharides) following intrauterine growth retardation. Biol Neonate 1976; 28:196-203.

156 Fitzhardinge PM, Steven EM. The small-for-date infant. II. Neurologic and intellectual secuelae. Pediatrics 1972; 50:50-57.

157- Fitzhardinge PM, Steven EM. The small for date infant. I. Later growth patterns. Pediatrics 1972 May; 49(5):671-681.

158- Marks JF, Kay J, Braum J. Uric acid levels in full-term and low-birth-weight infans. J. Pediatr 1968 Oct; 73(4):609-611.

159- Rubatelli FF, Peratoner L. Ammonia nitrogen in "small-for-dates" newborn babies. Lancet 1969 Jan25;1(7587):201.

- 160- Bazso M; Asztalos M; Kassai L. Serum protein in foetal growth retardation. In Horsky J, Sembra ZK (eds):*Intrauterine Dangers to the Fetus*, p.585. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam, 1967.
- 161- Eggermont E; Socha J; Bhavani S. Plasma prealbumin in the newborn. *Acta Paedtr Scand* 1979 Jul; 68(4):613.
- 162- Yeung CY, Hobbs JR. Serum-G-globulin levels in normal, premature, post-mature and "small-for-dates" newborn babies. *Lancet* 1968 Jun1; 1(7553):1167-1170.
- 163- Hivarinen M, Zeltzer P, Oh W. Influence of gestational age on serum levels of alfa-1-fetoprotein, IgG, globulin, and albumin in newborn infants. *J Pediatr*. 1973 Mar; 82(3):430-437.
- 164- Wara DW, Barrett DJ. Cell-mediated immunity in the Newborn: Clinical aspects. *Pediatrics*. 1979 Nov; 64(5 Pt 2 Suppl):822-828.
- 165- Chandra RK. Fetal malnutrition and postnatal immunocompetence. *Amer J Dis Child* 1975 Apr; 129(4):450-454.
- 166- Chatrath R, Saili A, Jain M, Dutta AK. Immune status of full-term small-for-gestational-age neonates in India. *J Trop Pediatr*. 1997 Dec; 43(6):345-348.
- 167- Prokopowick J, Ziobro J. Bactericidal capacity of plasma and granulocytes in small for dates newborn. *Acta Paediatr Acad Sci Hung* 1975; 16(3-4):267-270.
- 168- Chandra RK. Immunocompetencia in low-birth-weight infant after intrauterine malnutrition. *Lancet* 2:1393, 1975.
- 169- Ferguson A.C. Lawlor G.R. Oh W. Decreased rosette forming lymphocytes in malnutrition and intrauterine growth retardation. *J Pediatr* 1974 Nov; 85(5):717-723.
- 170- Kiss S, Walez E, Revesz T, Schler D. Lymphocyte subpopulations in peripheral blood of small-for-gestational age and appropriate-for-gestational age preterm neonates. *Acta Paediatr Hung* 1984; 25(3):291-297.
- 171- Jackson CM. The effects of inanition and malnutrition upon growth and structure. Philadelphia, P. Blakiston's son & co. McGraw-Hill Book Company. 1925.616 p.
- 172- Alexander C. Ferguson, M.B., F.R.C.P.(C), D.C.H., Prolonged impairment of cellular immunity in children with intrauterine growth retardation. *J Pediatrics* 1978 July; 93(1):52-56.
- 173- Smythe PM, Grace HJ, Mafoyan A, Coovadia HM, Parent MA, Vos GH. Thymolyphatic deficiency and depression of cell-mediated immunity in protein-calorie malnutrition. *The Lancet*. 1971 Oct 30; 2(7731)939-943.

- 174- Sinclair JC; Silverman WA. Intrauterine growth in active tissue mass of the human fetus, with particular reference to the undergrown baby. *Pediatrics* 1966 Jul; 38(1):48-62.
- 175- Lees MH, Younger EW, Babson SG. Thermal requirements of undergrown human neonates. *Biol Neonate* 1966; 10(5):288-302.
- 176- Bakoo ON; Scopes JW. Minimal rates of oxygen consumption in small-for-dates babies during the first week of life. *Arch Dis Child* 1974 Jul;49(7):583-85.
- 177- Jhon P. Cloherty; Ann R. Stark. Manual de cuidados neonatales. Edit. Masson. 3ª Edición. 1999. Pag 24-27.
- 178- Kaplan M. M. Thyroid Disease in Pregnancy. In N. Gleicher (ed), *Principles and Practice of Medical Therapy in Pregnancy*. Norwalk, Conn: Appleton & Lange, 1992
- 179- Klebanoff MA. Meirik O. Merendes HV. Second-generation consequences of small-for-dates birth. *Pediatrics* 1989; 84(2):343-347.
- 180- Lubchenco LO, Hansman C. Dressler M, Boyd E. Intrauterine growth as estimated from libeborn birth weight data at 24 to 42 weeks of gestation". *Pediatrics*. 1963 Nov;32:793-800.
- 181- Greg R. Alexander, John H. Himes, Rajni B. Kaufman, Joanne Mor, Michael Kogan. A United States national reference for fetal growth. *Obstetrics & Gynecology*, February 1996; 87(2):163-168.
- 182- Sociedad española de Ginecología y Obstetricia (SEGO). Protocolos asistenciales. *Obstetricia*. Protocolo 2. Enero 2002
- 183- Pla de salut de Catalunya 1996 – 1998. Servei català de la salut. Protocols per l'atenció primària de salut. Protocol de seguiment de l'embaràs a Catalunya. Edita: Direcció General de Salut Pública.
- 184- Poblete A, Roberts A, Trespidi L, Guarneri D, Nicolini U. Fetal and maternal White cells and B- and T-lymphocyte subpopulations in pregnant women with recent infection. *Fetal Diagn Ther*. 2001 Nov-Dec; 16(6):378-383.
- 185- Juretic E, Juretic A, Uzarevic B, Petroveckii M. Alterations in lymphocytes phenotype of infected preterm newborns. *Biol Neonate* 2001;80(3):223-227.
- 186- Brune T, Koch HG, Plumpe U, Harms E, Louwen F. Effect of pathological perinatal conditions on the maternofetal transfer of mononuclear cells. *Fetal Diagn Ther*. 2002 Mar-Apr;17(2):110-114.
- 187- De Amici D, Gasparoni A, Chirico G, Bartoli A, Moretta A. Natural killer cell activity and delivery: possible influence of cortisol and anesthetic agents. A study on newborn cord blood. *Biol. Neonate*, 2000 Jul;78(1):70-72.

188- Ryhanen P, Jouppila R, Lanning M, Hollmen A, Kouvalainen K. Natural killer cell activity after elective cesarean section under general and epidural anesthesia in healthy parturients and their newborns. *Gynecol Obstet Invest.* 1985;19(3):139-142.

189- Vietor EH; Bolk J; Vreugdenhil GR; Kanhai HH; Brand A. Alteration in cord blood leukocyte subsets of patients with severe hemolytic disease after intrauterine transfusion therapy. *J Pediatr* 1997 May; 130(5):718-724.

190- Wang Rodrigues J, Fry E, Fiebig E, Lee T, Mannino F. Immune response to blood transfusion in very-low-birthweight infants. *Transfusión* 2000 Jan; 40(1):25-34.

191- Marjorie Wilson, Fred S. Rosen, Stuart F. Schossman, Ellis L. Reinherz. Ontogeny of human T and B lymphocytes during stressed and normal gestation: phenotypic analysis of umbilical cord lymphocytes from term and preterm infants. *Clinical Immunology and Immunopathology* 1985; 37:1-12.

192- Godula Stuglik U, Mazur B, Mikusz G, Tomanek L. Lymphocyte subpopulations in full-term septic neonates. *Pediatr Int* 1999 Oct; 41(5):500-505.

193- Bulujold E, Chaiworapongsa T, Romero S, Gervasi MT, Berman S, Kim YM. Neonates born to pre-eclamptic mother a higher percentage of natural killer cells (CD3-/CD 56+16+) in umbilical cord blood than those without pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003 Nov; 14(5):289-290.

194- Greco P, Manzionni M, Vimercati A, Mautone A. Neutropenia in neonates delivered of women with pre-eclampsia. *Acta Biomed Ateneo Parmense* 1997; 68 Suppl 1:91-94.

195- S. Fernandez Jonusas, JM Ceriani Cernadas. Efectos de la hipertensión arterial durante el embarazo sobre el peso al nacer, el retardo del crecimiento intrauterino y la evolución neonatal. Estudio caso-control apareado. *Anales Españoles de Pediatría* 1999; 50(1):52-56.

196- Baker DA; Hameed C; Tejani N; Thomas J; Dattwyler R. Lymphocyte subsets in the neonates of preeclamptic mothers. *Am J Reprod Immunol Microbiol.* 1987 Aug; 14(4):107-109.

197- Mahmoud F, Omu A, Abul H, El-Rayes s, Haines D. Lymphocyte subpopulations in pregnancy complicated by hypertension. *Obstet Gynecol.* 2003 Jan;23(1):20-26.

198- Orfao A, Gonzalez M, Ciudad J, San Miguel JF, Lopez Borrascas A. Aplicaciones de la citometría de flujo en el diagnóstico hematológico. *Biol. Clin Hematol.* 1992.

199- Orfao A, Ciudad J, López-Berges MC, Macedo A, Gonzalez M, San Miguel JF. La citometría de flujo en el diagnóstico clínico. *Servicio General de Citometría. Universidad de Salamanca.* 1993.

200-. Dennis R Burton. Human Monoclonal Antibodies: Achivement and Potential. Hospital Practice. 1992 Aug 15:67-74.

201- Rabian Herzog C; Lesage S; Gluckman E; Charron D. Charaterization of lymphocyte subpopulations in cord blood. J Hematother 1993 Summer; 2(2):255-257.

202- Kreienberg R, Kaub C, Kessens H, Goldhofer W, Lemmel EM. Immunological competence of newborns. Investigations into distribution of different lymphocyte populations and their-function in umbilical blood. Z Geburtshilfe Perinatol. 1982 Jun-Jul; 186(3):157-163.

203- Grubl A; Bauer CP; Franz R; Schlemmer P; Ulm K. Cord blood T-cell determination: a further useful parameter for atopy screening of the newborn?. Allergy-Proc 1991 May-Jun; 12(3):181-186.

204 Tubiana N, Sampol J, Carcassonne Y. - Lymphocyte phenotyping in the cord blood. Pathol Biol, Paris. 1987 Feb; 35(2): 184-186.

205- Thomas R M; Linch D C. Identification of lymphocyte subsets in the newborn using a variety of monoclonal antibodies. Archives of Disease in Childhood 1983; 58:34-38.

206- Bernard A; Berstein I. Nomenclature for cluster of differentiation (CD) of antigens defined on human leucocyte populations. Bull World Health Organ 1984; 62:809-811.

207- Knapp W; Rieber P; Dörken B; Schmit RE; Stein H. Towards a better definition of human leucocyte surface molecules. Immunol Today 1989; 10:253-258.

208- HintzeJ (2001). NCSS and PASS. Number Cruncher Statiscal Systems. Kaysville, Utah. www.ncss.com.

209- Thomas RM, Linch DC. Identification of lymphocyte subsets in the newborn using a variety of monoclonal antibodies. Arch Dis Chil 1983 Jan; 58(1):34-38.

210- Motley D, Meyer MP. Determination of lymphocyte immunophenotypic values for normal full-term cord blood. Am J Clin Pathol. 1996 Jan; 105 (1):38-43.

211- Samelson R, Larkey DM, Amankwah KS, McConnachie P. Effect of labor on lymphocyte subsets in full-term neonates. Am J Reprod Immunol. 1992 Sep; 28(2): 71-73.

212- Chirico G, Gasparoni A, Rondini G. Leukocyte counts in relation to the method of delivery during the five days of life. Biol Neonate 1999 May; 75(5):294-299.

213- Komlos L, Landmann J, Goldman J, Notmann J, Aloni D, Halbrecht I. Lymphocyte subpopulations in mother and newborn: correlation with sex of the newborn and number of pregnancies. *Gynecol Obstet Invest.* 1989;27(3):143-147.

214- Gasparoni A; Maccario R; Chirico G. Neonatal B-lymphocyte subpopulation and method of delivery. *Biol. Neonate* 1992; 61(3):137-141.

215- Uksila J; Lassilla O. Hirvonen T. Natural killer cell function of human neonatal lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 1982 Jun; 48(3):649-654.

216- Krolak-Olejnik B, Mazur B. Influence of mode and time of delivery on leukocyte subpopulation in umbilical cord blood. *Ginekol Pol* 2000 Jun; 71(6): 566-570.

217- Pittard WB, Schleich DM, Geddes KM, Sorensen RU. Newborn lymphocyte subpopulations: the influence of labor. *Am J Obstet Gynecol.* 1989 Jan;160(1):151-154.

218- Frazier JP, Cleary TG, Pickerig LK, Kohl S, Ross PJ. Leukocyte function in healthy neonates following vaginal and cesarean section deliveries. *J Pediatr,* 1982 Aug; 101(2);269-272.

219- Thilaganathan B, Meher-Homji N, Nicolaides KH. Labor: an immunological beneficial process the neonate. *Am J Obstet Gynecol.* 1994 Nov; 171(5):1271-1272.

220- Banasik M, Zeman K, Pasnik J, Lewkowicz P, Tchorzewski H. Effect of maternal labor and mode of delivery on function of neonatal cord blood neutrophils. *Ginekol Pol.* 2000 Jun;71(6):559-565.

221- Szymanska-Toczek Z, Dabek J, Hrycek A, Baumert M. Comparative study of neutrophil activities in adults and full-term neonates in relation to the method of delivery. *Folia Biol (Praha).* 2001;47(2):71-74.

222- Lim FT, van Willemze R, Kanhai HH, Falkenburg JH. Influence of delivery on numbers of leukocyte subpopulations, and hematopoietic progenitor cells in human umbilical cord blood. *Blood Cells.* 1994;20(2-3):547-558.

223- Lim FT, Scherjon SA, Brand A, Kanhai HH, Falkenburg JH. Association of stress during delivery with increased numbers of nucleated cells and hematopoietic progenitor cells in umbilical cord blood. *Am J Obstet Gynecol* 2000 Nov;183(5):1144-1152.

224- Pafumi C, Farina M, Maggi I, Giardina P, Mangiafico L, Calogero AE, Cianci A. Influence of the kind on umbilical cord blood collection. *Haematologia.* 2002;31(4):341-345.

225- De Amici D, Gasparoni A, Chirico G, Ramajoli I, Moretta A. Natural killer cell activity and delivery: possible influence of cortisol and anesthetic agents. A study on newborn cord blood. *Biol Neonate* 1999 Dec; 76(6):348-354.

226- Cairo MS, Wagner EL, Fraser J, Cohen G, Carter SL, Kurtzberg J. Characterization of banked umbilical cord blood hematopoietic progenitor cells and lymphocyte subsets and correlation with ethnicity, birth weight, sex, and type of delivery: a Cord Blood Transplantation (COBLT) Study report. *Transfusion*. 2005 Jun;45(6):829-831.

227- Chandra R K. Nutrition, immunity and infección: present knowelage and future directions. *Lancet* 1983 Mar 26; 1(8326 Pt1):688-691.

228- Avery Gordon B, Fletcher Mary A, and MacDonald Mhairi G. Neonatology: phathophysiology and management of the newborn. The small for gestational age infant. eds. 4^a ed. Philadelphia: JB Lippincott & Co; 1994:1,526 p.

229- Nelson, Tratado de Pediatria. 16^a edición. Pag: 648-703. Edt McGraw-Hill

230- Hertz Picciotto I, Herr CE, Yap PS, Dostal M, Lipsett M, Joad JP, Sram RJ. Air pollution and lymphocyte phenotype proportions in cord blood. *Environ Health Perspect*. 2005 Oct;113(10):1391-1398.