

Daño al ADN en neonatos de madres con sobrepeso

Pérez-Díaz Cinthia Ivette, Zamora-Pérez Ana Lourdes, Ortiz-García Yveth Marlene, Sánchez-Urbina Rocío, Avilés-Martínez Karla Isis y Pérez-Rulfo Ibarra Daniel.

Autor para correspondencia

Pérez-Díaz Cinthia Ivette. Pediatra en adiestramiento en servicio de Urgencias Pediatría. Hospital Civil "Fray Antonio Alcalde".

Domicilio: Av. Valle de San Isidro núm. 1576, Colonia Mirador de San Isidro Zapopan, Jalisco, MX.

Contacto al correo electrónico: cipedi89@hotmail.com

Teléfono: (044) 3313868269

Palabras clave: ADN, micronúcleos, recién nacidos, sobrepeso.

Keywords: DNA, micronuclei, neonates, overweight.



Daño al ADN en neonatos de madres con sobrepeso

Pérez-Díaz Cinthia Ivette¹, Zamora-Pérez Ana Lourdes², Ortiz-García Yveth Marlene², Sánchez-Urbina Rocío³, Avilés-Martínez Karla Isis¹, Pérez Rulfo-Ibarra Daniel¹.

Resumen

Introducción

El sobrepeso en el embarazo es un proceso inflamatorio crónico que aumenta la producción de radicales libre y de estrés oxidativo. El incremento de radicales libres puede ocasionar rupturas al ADN y formar micronúcleos, su presencia y frecuencia representa daño genómico, por lo que el ensayo de micronúcleos en células exfoliadas es un biomarcador específico para evaluar la exposición a genotóxicos, teratógenos y cancerígenos.

Por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar el número de micronúcleos en células de mucosa bucal de madres con normopeso, sobrepeso y sus neonatos.

Material y Métodos

Se trata de un estudio transversal, se analizaron a las madres y a sus neonatos de acuerdo al IMC de la madre. Se tomaron muestras de células de carrillo que fueron teñidas con naranja de acridina para su análisis en microscopio de fluorescencia. Para establecer diferencias entre los grupos se usó la prueba no paramétrica de U de Mann Whitney del paquete estadístico SPSS.

Resultados

Las madres con sobrepeso y sus neonatos presentaron mayor número de micronúcleos en comparación con el grupo con normopeso ($p < 0.05$).

Conclusiones

Nuestros resultados demuestran que existe daño al ADN en madres con sobrepeso y sus neonatos, puede deberse al proceso inflamatorio característico del sobrepeso y consiguiente aumento de radicales libres, demostrando además que el ambiente intrauterino puede ser susceptible de sufrir desbalances entre agentes pro y anti oxidantes que afectan el desarrollo del feto, evidenciando el potencial teratógeno de la obesidad.

Palabras clave: ADN, micronúcleos, recién nacidos, sobrepeso.

1. Servicio de Pediatría Médica, Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", Jalisco, MX.
2. Instituto de Investigación en Odontología. Centro Universitario de Ciencias de la Salud. Universidad de Guadalajara, Jalisco, MX.
3. Laboratorio de Biología del Desarrollo y Teratogénesis Experimental, Hospital Infantil de México.

Autor por correspondencia:

Pérez Díaz Cinthia Ivette. Pediatra en adiestramiento en servicio de Urgencias Pediatría. Hospital Civil "Fray Antonio Alcalde".

Domicilio: Av. Valle de San Isidro núm. 1576, Colonia Mirador de San Isidro Zapopan, Jalisco, MX.

Contacto al correo electrónico: ciped89@hotmail.com

Teléfono: (044) 333868269.

Damage to DNA in newborns of overweight mothers

Abstract

Introduction.

Overweight in pregnancy is a chronic inflammatory process that increases the production of free radicals and oxidative stress. The increase of free radicals can cause ruptures to DNA and form micronuclei, their presence and frequency represents genomic damage, so the micronucleus assay in exfoliated cells is a specific biomarker to evaluate the exposure to genotoxic, teratogenic and carcinogenic compounds. Therefore, the objective of the present study was to determine the number of micronuclei in oral mucosa cells of mothers with normal weight, overweight and their newborns.

Material and Methods.

This was a cross-sectional study, mothers and their newborns were analyzed according to the mother's BMI. Cheek mucosa cells were sampled and stained with acridine orange for analysis under fluorescence microscopy. The non-parametric Mann Whitney U test of the SPSS statistical package was used to establish differences between the groups.

Results.

Overweight mothers and their newborns had a higher number of micronuclei compared to the normal weight group ($p < 0.05$).

Discussion.

Our results show that there is DNA damage in overweight mothers and their newborns. It may be due to the inflammatory process characteristic of overweight and consequent increase of free radicals, showing that the intrauterine environment may be prone to imbalances between pro and anti oxidants that affect the development of the fetus, evidencing the teratogenic potential of obesity.

Key Words: DNA, micronuclei, neonates, overweight.

Introducción

El sobrepeso en el embarazo es un problema de salud importante; en la Encuesta Nacional de Salud 2000 (ENSA-2000) se registró una prevalencia de sobrepeso en mujeres en edad reproductiva del 36.1%.¹

La presencia de sobrepeso y obesidad durante el embarazo incrementa las complicaciones obstétricas y, en el neonato, existen mayor número de malformaciones, dificultad respiratoria, sepsis y trastornos metabólicos.^{2,3}

El sobrepeso cursa con un proceso inflamatorio crónico debido al aumento en número y tamaño de los adipocitos, en los cuales se ha demostrado una expresión aumentada de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa y mayor producción de especies reactivas de oxígeno provocando disminución de enzimas antioxidantes e incremento de Radicales Libres (RL) culminando en estrés oxidativo (EOx).^{4,5}

La interacción de los RL con el material genético puede ocasionar "rompimiento" de la cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN) generando unas partículas llamadas micronúcleos (MN), los cuales son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que son excluidos del núcleo durante mitosis. La presencia de MN es un reflejo de la presencia de agentes genotóxicos sobre los cromosomas.^{6,7} Los niveles elevados de marcadores de EOx en la madre con sobrepeso atraviesan la barrera hemato-placentaria afectando así el ambiente intrauterino.⁸

Se realizó el ensayo de MN en células de mucosa bucal; las ventajas de éste son que es un estudio in vivo, reflejo de afectación sistémica, no invasivo y de bajo costo con un amplio uso y gran trascendencia ya que es un tejido en constante división celular ampliamente estudiado.⁹

Se ha descrito que el EOx prenatal derivado de distintas enfermedades como preeclampsia, eclampsia e infecciones se asocian a partos prematuros, además se ha descrito la presencia de MN en tejidos pre cancerígenos, sin embargo las consecuencias clínicas a largo plazo de estos en neonatos sanos es aún desconocido, por lo que determinar el daño al ADN en puérperas con sobrepeso y sus neonatos mediante el ensayo de MN tiene relevancia por su enlace como biomarcador en la progresión neoplásica y su potencial teratógeno.¹⁰

Material y métodos

Se trata de un estudio transversal. Se incluyeron a madres y sus neonatos atendidos en el Hospital Militar de Especialidades de la Mujer y Neonatología de la Ciudad de México en el periodo del año 2012 al año 2015.

Se incluyeron madres con un Índice de Masa Corporal (IMC) de 18.6-24.9 (grupo de normopeso) y 25-29.9 (grupo de sobrepeso) al inicio del embarazo sin enfermedades agregadas que desearon participar en el estudio y sus

neonatos de término aparentemente sanos. Se excluyeron madres con toxicomanías y exposición a teratógenos; al igual que neonatos con malformaciones y procesos infecciosos activos. Se utilizó un método no probabilístico de colecta por selección consecutiva y análisis de muestras simple.

Posterior a la firma del consentimiento informado, se aplicó un cuestionario a la madre que incluyó datos generales como hábitos alimenticios, consumo de drogas, alcohol, tabaco, tiempo de exposición a éste, consumo de medicamentos, edad y peso. De los recién nacidos se obtuvieron datos como semanas de gestación, Apgar, Silverman- Anderson, sexo, peso, patologías asociadas y anomalías congénitas. Se tomaron muestras de células de carrillo, se tiñeron con naranja de acridina (colorante específico para ácidos nucleicos) para su posterior observación en microscopio de fluorescencia.

En el análisis del frotis, se contaron el número de MN en 2,000 células mediante el objetivo de 60x y 100x de acuerdo con los criterios de clasificación en el ensayo de MN.

Para el análisis estadístico se usaron pruebas no paramétricas, para establecer diferencias con respecto al número de MN se utilizó la prueba U de Mann Whitney para muestras independientes y comparaciones intergrupo, se consideró estadísticamente significativo cuando el valor de P sea < 0.05 y las pruebas estadísticas se realizaron por medio del programa SPSS (v.11.0) para Windows®.

Resultados

Se analizaron en total 66 muestras de células de mucosa bucal de 66 participantes (grupo normopeso n=36; grupo sobrepeso n=30).

Análisis de Micronúcleos en madres

Se realizó el análisis de MN en madres con normopeso y sobrepeso. El promedio y desviación estándar de MN se muestran en el cuadro 1 y en la gráfica 1. En el grupo de puérperas con normopeso se encontró un promedio de MN de 1.18 ± 0.75 , mientras en el grupo de sobrepeso se encontró un promedio de 2.38 ± 2.50 .

Al realizar comparaciones de MN podemos observar un incremento estadísticamente significativo de MN en el grupo con sobrepeso comparado con el grupo de normopeso ($p=0.015$) (cuadro 1).

Análisis de Micronúcleos en neonatos

Se realizó el análisis de MN en neonatos hijos de madres

Tabla 1. Valores de MN de células de mucosa en madres con normopeso y sobrepeso.

Grupos de puérperas	n	MN
Normopeso	18	1.18 ± 0.75^a
Sobrepeso	15	2.38 ± 2.5^b
<i>p</i>		0.015^{ab}

Los datos de MN se expresan como promedio \pm desviación estándar /2,000 células. MN: Micronúcleos; n: Tamaño de muestra, p: probabilidad ab: comparación entre normopeso y sobrepeso (fuente directa).

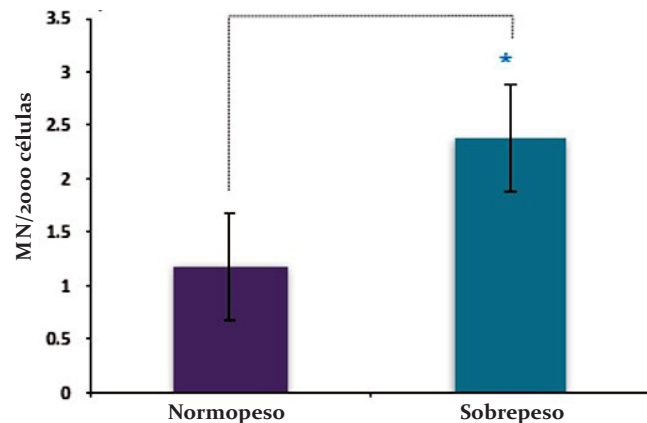


Figura 1. Distribución de MN en células de carrillo en el grupo de puérperas, MN: Micronúcleos; *: $p < 0.05$ (fuente directa).

con normopeso y sobrepeso. El promedio y desviación estándar de MN se muestran en el cuadro 2 y en la gráfica 2. Se encontró un promedio de MN en el grupo de normopeso de 0.55 ± 0.92 , mientras en el grupo de sobrepeso se encontró un promedio de 1.15 ± 0.80 .

Al realizar comparaciones de MN podemos observar significativamente mayor número de MN en el grupo de sobrepeso comparado con el grupo normopeso con $p < 0.05$.

Discusión

Nuestro estudio demostró un incremento significativo de micronúcleos en puérperas con sobrepeso en comparación de aquellas con normopeso ($p=0.015$).

Los micronúcleos son el resultado de daño genotóxico y su presencia se ha relacionado con la fisiopatología del sobrepeso donde las adipocinas se encuentran incrementadas, así como los mediadores proinflamatorios como IL-6 y TNF-alfa, las cuales favorecen a una respuesta inflamatoria crónica en el tejido adiposo; aunado a esto, estas adipocinas inducen la producción de radicales libres, generando EOX sistémico teniendo correlación positiva con el IMC.^{4,11,12}

Los radicales libres son capaces de inducir rupturas de la cadena de ADN y formar micronúcleos.¹³ Los incrementos del daño al ADN observado en el grupo con sobrepeso coinciden con estudios previos donde se analizó el daño cromosómico mediante el ensayo de micronúcleos en cultivos de linfocitos de individuos con obesidad, sobrepeso y normopeso donde se observó mayor frecuencia de estas anomalías en el grupo de individuos con obesidad y sobrepeso.¹⁴

Este trabajo es el primero en determinar el daño al ADN en neonatos de puérperas con sobrepeso en células de mucosa bucal mediante el ensayo de micronúcleos; nuestros resultados muestran que los neonatos hijos de madres con sobrepeso presentan un incremento significativo en el número de micronúcleos ($p=0.05$) comparado con el grupo de hijos de madres con normopeso.

Se han estudiado la transferencia de productos de EOX y mediadores proinflamatorios como óxido nítrico y

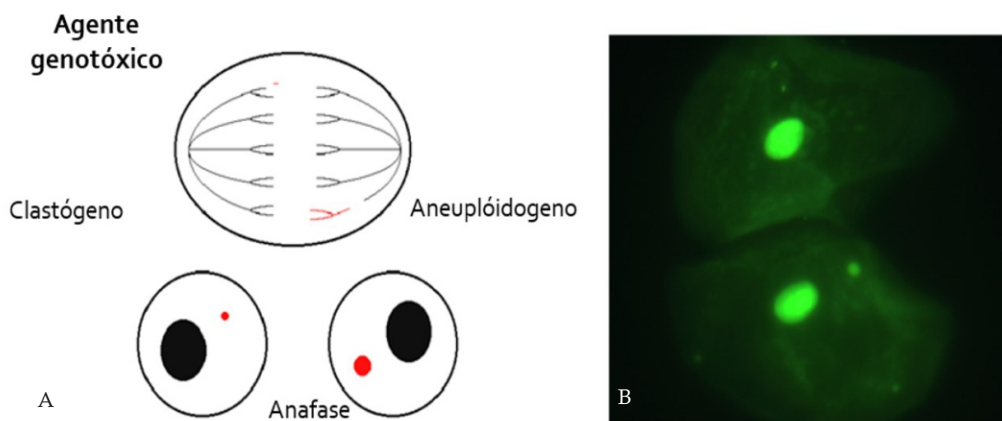


Figura 2. A. Esquema de la formación de los MN B. Fotografía de MN en células de mucosa bucal (Naranja de acridina/Instituto de Investigación en Odontología; CUCS, UdG).

malondialdehído a través de la barrera placentaria lo que demuestra que el ambiente intrauterino no está aislado y puede ser susceptible de sufrir desbalances que afecten el desarrollo de la gesta a nivel genético.^{15,16}

De acuerdo a este estudio, los genotóxicos pueden tener efecto teratógeno al tener la capacidad de alterar el material genético, causando mutaciones en células somáticas y germinales. Esta exposición en la madre provocaría una transferencia de la mutación a su descendencia, apoyando esto a la hipótesis “programación del desarrollo”.¹⁷ Esto es de gran

trascendencia pues, aunque el neonato no muestra alteraciones físicas o aparentes al nacimiento, este estudio comprueba que existe genotoxicidad en el neonato debido al ambiente intrauterino alterado al que es sometido durante el desarrollo y este puede heredar futuras susceptibilidades asociadas a las modificaciones genéticas que las rupturas cromosómicas puedan ocasionar y las consecuencias que esto conlleva.

Los resultados de este trabajo reflejan el daño genotóxico por la inflamación y el EOX ocasionado por el sobrepeso, tanto en las púerperas como en el neonato, por esto debemos enfatizar la responsabilidad que tiene el profesional de la salud para promover un ambiente sano en pro de los niños desde previo a su concepción y mantenerla hasta su edad reproductiva y así desarrollar un círculo de bienestar para las futuras generaciones.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que las madres con sobrepeso y sus hijos presentan valores mayores significativamente de MN, en comparación con las madres con normopeso, se asume que estos hallazgos son por un mayor proceso inflamatorio y de EOX asociado a la condición de sobrepeso y a la transferencia de pro-oxidantes a través de la barrera placentaria.

Conflicto de interés. Los autores declaran no tener conflicto de interés.

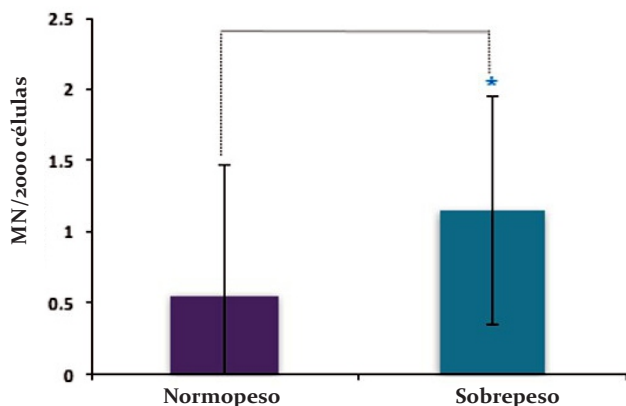


Figura 3. Distribución de MN en células de carrillo en el grupo de neonatos, MN: Micronúcleos, *: p<0.05 (fuente directa).

Tabla 2. Valores de MN de células de carrillo en neonatos hijos de madres con normopeso y sobrepeso.

Grupos de neonatos	n	MN
Normopeso	18	0.55±0.92 ^a
Sobrepeso	15	1.15±0.80 ^b
<i>p</i>		0.05 ^{ab}

Los datos de MN y AN se expresan como promedio ± desviación estándar /2,000 células. Las comparaciones se muestran de la siguiente manera: MN: Micronúcleos, n: Tamaño de muestra; P: probabilidad, ab: comparación entre normopeso y sobrepeso. (fuente directa).

Referencias bibliográficas

- Olaiz G, Rojas R, Barquera S, Shamah T, Aguilar C, Cravioto P, López P, Hernández M, Tapia R, Sepúlveda J. Encuesta Nacional de Salud 2000. Tomo 2. La salud de los adultos. Cuernavaca, Morelos, México. Instituto Nacional de Salud Pública, 2003.
- González J, Juárez JS, Rodríguez JL. Obesidad y embarazo. *Revista Médica MD* 2013; 4(4):269-275pp
- Ortega LL, López J, Sánchez A, Magaña G, Guzmán A, Angulo E, Gutiérrez J. Evaluación clínica comparativa entre recién nacidos de madres obesas y eutróficas. *Pediatría de México*. 2012; 14(1): 12-16.
- Blancas G, Almanza JC, López RI, Alarcón FJ, García R, Cruz M. La obesidad como un proceso inflamatorio. *Bol. Med. Hosp. Infant*. 2010; 67(2): 88-97pp.
- Sies H. Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chem* 1986; 25:1058-1071.
- Heddle JA, Cimino MC, Hayashi M, Romagna F, Shelby MD, Tucker JD, Vanparys P, MacGregor JT. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present and future. *Environ Mol Mutagen*. 1991; 18:277-291pp.
- Zúñiga GM, Torres O, Zamora A, Gómez BC, Ramos ML, Gallegos MP, Flores A, López A. Induction of micronucleated erythrocytes in mouse peripheral blood after cutaneous application of 5-Fluorouracil. *Arch Med Res*. 2003; 34:141-14pp.
- Malti N, Merzouk H, Merzouk SA, Loukidi B, Karaouzene N, Malti A, Narce M. Oxidative stress and maternal obesity: feto-placental unit interaction. *Placenta* 2014; 35(6):411-6pp. doi: 10.1016/j.plac.2014.03.010.
- Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat Res* 1992; 271:69-77.
- Shashikala R, Indira AP, Manjunath GS, Arathi rao K, and Akshatha BK. Role of micronucleus in oral exfoliative cytology. *J Pharm Bioallied Sci*. 2015 Aug; 7(Suppl 2): 409-413pp. doi: 10.4103/0975-7406.163472
- Espósito K, Ciotola M, Giugliano DJ. Oxidative stress in the Metabolic Syndrome. *Endocrinol. Invest*. 2006; 29: 791-795.
- Pihl E, Zilmer K, Kullisaar T, Kairane C., Magi A, Zilmer M. Atherogenic inflammatory and oxidative stress markers in relation to overweight values in male former athletes. *Int. J. Obesity*. 2006; 30: 141-146pp.
- Boveris A. La evolución del concepto de radicales libres en biología y medicina. *Ars Pharm*. 2005; 46: 85-95.
- Hamiyet A, Sahina F, Bayram F, Bitgen N, Mert M, Guclud K, Hamurcu Z. Evaluation of chromosomal damage, cytostasis, cytotoxicity, oxidative DNA damage and their association with body-mass index in obese subjects. *Mutation Research*. 2014; 771: 30-36pp.
- Malti N, Merzouk H, Merzouk S. Oxidative stress and maternal obesity: Feto-placental unit interaction. *Placenta*. 2014; 35: 411-416 pp.
- Gallardo J, Gomez J, Medina P, Juarez F, Contreras A, Galicia M, Sanchez R. Maternal Obesity Increases Oxidative Stress in the Newborn. *Obesity*. 2015; 23(8):1650-1654pp.
- Vickers M. La programación de desarrollo y la transmisión transgeneracional de la obesidad. *Ann Nutr Metab* 2014; 64(suppl 1):26-34pp.