

# Retinopatía del prematuro y estrés oxidativo

R. Cervantes-Munguía<sup>a</sup>, L. Espinosa-López<sup>a</sup>, P. Gómez-Contreras<sup>b</sup>, G. Hernández-Flores<sup>b</sup>, J. Domínguez-Rodríguez<sup>b</sup> y A. Bravo-Cuéllar<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Neonatología y Oftalmología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente. Instituto Mexicano del Seguro Social. <sup>b</sup>Centro de Investigación Biomédica de Occidente. Instituto Mexicano del Seguro Social. México.

## Introducción

Existen algunas evidencias de que la retinopatía del prematuro es consecuencia de un elevado estrés oxidativo sobre la retina en desarrollo, lo cual se debe a la generación exagerada de radicales libres o a una disminución en la capacidad para su eliminación.

## Objetivo

Determinar la asociación entre la concentración elevada de estrés oxidativo y la presencia de retinopatía del prematuro.

## Material y métodos

Se realizó un estudio de cohorte prospectiva. Se incluyeron 50 prematuros de menos de 33 semanas de gestación. El estrés oxidativo se midió con la concentración sérica de lipoperóxidos. Se tomaron muestras a partir de la primera semana de vida y después, cada semana hasta la cuarta. Se compararon los resultados de las 4 muestras juntas, entre los prematuros con retinopatía de cualquier grado con los que no la desarrollaron. Las evaluaciones oftalmológicas se realizaron a partir de la cuarta semana de vida.

## Resultados

La incidencia de retinopatía en el estudio fue del 22% (11/50). Hay una diferencia significativa en los valores promedio de todas las muestras, entre aquellos que presentaron retinopatía del prematuro,  $5,44 \pm 1,30$  nmol/ml, comparados con los que no presentaron la enfermedad,  $2,94 \pm 0,89$  nmol/ml, con una  $p = 0,00001$ . El riesgo relativo para el desarrollo de retinopatía con concentraciones elevadas de lipoperóxidos fue de 5,15, 5,63, 4,15 y 12,70 para las muestras de cada una de las semanas, respectivamente.

## Conclusiones

Existe una asociación entre la concentración elevada de lipoperóxidos séricos, como una medida de estrés oxidativo y la incidencia de la retinopatía del prematuro.

## Palabras clave:

*Estrés oxidativo. Retinopatía de prematuro. Lipoperóxidos.*

## RETINOPATHY OF PREMATURITY AND OXIDATIVE STRESS

### Introduction

There is some evidence that retinopathy of prematurity is due to excessive oxidative stress on the developing retina caused by high free radical production or reduced ability to eliminate these radicals.

### Objective

To determine the relationship between high levels of oxidative stress and retinopathy of prematurity.

### Material and methods

A prospective cohort study was designed. Fifty premature infants of less than 33 weeks' gestational age were included. Serum lipoperoxide levels were determined as a measure of oxidative stress. Samples were taken once a week for 1 month, starting from the first week of life. The results of all four samples were compared between infants who developed any degree of retinopathy of prematurity and those without it. Ophthalmological examinations were performed after the fourth week of life.

### Results

The incidence of retinopathy of prematurity was 22% (11/50). The mean values of all the samples showed a significant difference between infants who developed retinopathy of prematurity ( $5.44 \pm 1.30$  nmol/ml) and those who did not ( $2.94 \pm 0.89$  nmol/ml,  $p = 0.0001$ ). The relative risk of developing retinopathy of prematurity with high serum lipoperoxide levels was 5.15, 5.63, 4.15 and 12.70 for each of the weekly samples.

**Correspondencia:** Dr. R. Cervantes-Munguía.  
Herrera y Cairo 1795. Col. Ladrón de Guevara.  
44650. Guadalajara. Jalisco. México.  
Correo electrónico: rcervantesm@hotmail.com

Recibido en octubre de 2004.  
Aceptado para su publicación en noviembre de 2005.

## Conclusions

**There is an association between high serum lipoperoxide levels, as a measure of oxidative stress, and the incidence of retinopathy of prematurity.**

## Key words:

**Oxidative stress. Retinopathy of prematurity. Lipoperoxides.**

## INTRODUCCIÓN

La retinopatía del prematuro, de sus siglas en inglés (ROP), es un trastorno de la vasculatura retiniana en desarrollo debido a la interrupción de la progresión normal de los vasos retinianos recién formados. La vasoconstricción y la obliteración del lecho capilar van seguidas de una neovascularización que se extiende al vítreo, y se produce edema de retina, hemorragias retinianas, fibrosis, tracción de la retina y, finalmente, desprendimiento de la retina<sup>1-3</sup>. La incidencia de la enfermedad es inversamente proporcional a la edad gestacional y peso al nacimiento. Los menores de 1.000 g suelen tener mayor frecuencia y formas más graves de la enfermedad<sup>4,5</sup>. Se comunica que entre 400 y 600 niños por año pueden quedar ciegos a causa de la ROP en Estados Unidos.

Uno de los factores de riesgo más importantes que se han comunicado para el desarrollo de ROP, además de la prematuridad, es el uso suplementario de oxígeno<sup>6-10</sup>. Otros son eventos de apneas, sepsis, hipercapnia, hipocapnia y deficiencia de vitamina E, entre otras<sup>4,5,11</sup>. Existen informes que apuntan que un nivel elevado de radicales libres de oxígeno (RLO) que condicionan estrés oxidativo, podría ser un mecanismo de daño a la retina en desarrollo<sup>12-15</sup>. Los RLO tienen un papel importante en una gran variedad de reacciones biológicas normales. En el organismo existe un equilibrio entre la producción de radicales libres, que actúan como oxidantes y los mecanismos de defensa del organismo, que actúan como antioxidantes. Cuando este equilibrio se pierde, se produce el fenómeno conocido como estrés oxidativo<sup>16,17</sup>.

Existe evidencia de que los RLO participan en muchas enfermedades de la etapa adulta, como son la aterosclerosis, la artritis reumatoide y el infarto de miocardio<sup>14,16,17</sup>. Así mismo, se ha intentado asociar los RLO con enfermedades en la etapa neonatal, como la displasia broncopulmonar, la enterocolitis necrosante y la ROP<sup>18,19</sup>.

Existen diferentes métodos para determinar el nivel de estrés oxidativo (nivel de ácido malondialdehído en sangre y orina, cuantificación de etano y pentano en aire espirado, nitritos urinarios). Sin embargo, la cuantificación de lipoperoxidos séricos (LPO) es un método más confiable ya que mide en forma directa el efecto de los radicales sobre las membranas celulares. Este método se basa en el hecho de que los RLO generan LPO cuando interactúan con los lípidos de la membrana celular<sup>20,21</sup>.

Los avances en medicina perinatal y la presencia de las unidades de cuidados intensivos neonatales han in-

crementado de forma importante la sobrevida, en especial de los prematuros más pequeños, pero trae consigo un incremento de la frecuencia de la ROP. Sin embargo, no se ha documentado de forma clara si la producción elevada de RLO pudiera tener efecto en algunos órganos blancos, en especial en la retina, de aquí que nos planteemos el interrogante de si un nivel elevado de estrés oxidativo, independientemente de la causa que lo origine y de los factores de riesgo presentes, pudiera estar asociado a mayor incidencia de la ROP.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Diseño

Se realizó un estudio de cohorte prospectiva. Los criterios de inclusión fueron: recién nacidos de 33 semanas o menos de edad gestacional (calculada por el método de Ballard modificada<sup>22</sup>) que ingresaron a la unidad de Neonatología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente, en Guadalajara (México), que tuvieran cuatro determinaciones de lipoperoxidos séricos, tomados cada semana a partir de la primera semana de vida y que hayan sido evaluados oftalmológicamente a partir de la cuarta semana de vida. No se incluyeron aquellos con malformaciones congénitas mayores y se eliminaron aquellos que no habían sido evaluados oftalmológicamente hasta que los vasos de la retina hayan alcanzado la zona III o haya existido remisión completa, ya fuera de forma espontánea o mediante intervención quirúrgica.

Los prematuros fueron incluidos de forma consecutiva, durante un período de 18 meses y seleccionados para análisis, cuando completaron los criterios de inclusión.

### Procedimientos

El examen oftalmológico se realizó de acuerdo con el Programa de Detección Temprana de ROP en el hospital, utilizando la Clasificación Internacional para la Retinopatía del Prematuro (ICROP)<sup>23</sup>, que es a partir de la cuarta semana de vida y, posteriormente, cada semana o dos según los hallazgos de cada revisión. Para tal efecto, se dilató la pupila con tropicamida al 0,8% y fenilefrina al 5%. Se realizó oftalmoscopia indirecta. Las evaluaciones se realizaron de la siguiente manera: en aquellos que no desarrollaron ROP, hasta que los vasos de la retina alcanzaran la zona III y en aquellos que desarrollaron ROP, hasta que la retinopatía remitiera completamente, ya fuera de forma espontánea o mediante cirugía, y/o los vasos de la retina alcanzaran la zona III.

Se decidió hacer un seguimiento durante 4 semanas de las concentraciones séricas de LPO y analizar su comportamiento durante este tiempo. Se tomaron cuatro muestras; una en las primeras 24 h de vida y después una cada semana. La cantidad de la muestra de sangre

venosa fue de 0,5 a 1 ml. El suero se separó inmediatamente por centrifugación. Se hicieron alícuotas y las muestras fueron congeladas dentro de las primeras 4 h a  $-70^{\circ}\text{C}$ , hasta que fueran analizadas. Las hemolizadas fueron eliminadas y reemplazadas por una muestra nueva un día después. La cuantificación de LPO fue realizada utilizando un kit comercial (K-ASSAY-CC-KAMIYA Co.). Los valores fueron medidos utilizando un espectrofotómetro con una densidad óptica de 675 nm. Los valores de LPO aparecen en nmol/ml.

TABLA 1. Antecedentes maternos y datos de todos los prematuros

Dato	Resultado	
Preeclampsia materna	56% (28/50)	
Infección urinaria materna	10% (5/50)	
Calificación de Apgar	Casos	Apgar
Al minuto	1	< 3
	24	3 a 7
	25	> 7
A los 5 min	0	< 3
	12	3 a 7
	38	> 7
Edad gestacional	Rango de 28 a 32 semanas Promedio $28,9 \pm 1,1^*$	
Peso al nacer	Rango de 790 a 1.260 g Promedio $1.035 \pm 112\text{ g}^*$	

\*Promedio y desviación estándar.

TABLA 2. Incidencia, clasificación y localización de las lesiones de la ROP

Dato	Porcentaje y clasificación de la lesión de acuerdo con la ICROP
Incidencia	22% (11/50)
Ojo derecho	9 con enfermedad preumbral 2 con enfermedad umbral
Ojo izquierdo	10 con enfermedad preumbral 1 con enfermedad umbral

ROP: retinopatía del prematuro; ICROP: Clasificación Internacional para la Retinopatía del Prematuro.

TABLA 3. Concentración sérica de LPO en prematuros con y sin la ROP

Semana	Prematuros con ROP (n = 11) (nmol/ml)	Prematuros sin ROP (n = 39) (nmol/ml)	Prueba U de Mann-Whitney (valor de p)
1. <sup>a</sup>	$6,89 \pm 3,49$	$3,89 \pm 3,52$	0,003
2. <sup>a</sup>	$4,77 \pm 2,15$	$3,49 \pm 2,91$	0,08
3. <sup>a</sup>	$5,07 \pm 3,66$	$2,34 \pm 1,88$	0,07
4. <sup>a</sup>	$4,36 \pm 2,07$	$2,03 \pm 2,40$	0,001
Promedio de las 4 muestras	$5,44 \pm 1,30$	$2,94 \pm 0,89$	0,00001

LPO: lipoperoxidos; ROP: retinopatía del prematuro.

## Análisis estadístico

Para definir el valor a partir del cual se determinó que los LPO se considerarían elevados y, por lo tanto, estrés oxidativo elevado, se utilizaron curvas operativas del receptor (COR). Los resultados se presentan en medidas de tendencia central (media, promedio, rangos). Las comparaciones estadísticas se realizaron con la prueba de U de Mann-Whitney. Para las medidas de asociación de cada una de las muestras por semana, se utilizaron cuadros de  $2 \times 2$ , con prueba de chi cuadrado o de Fischer, si cualquiera de las celdillas tenían un valor esperado, menor de 5. Se calculó el riesgo relativo (RR) y sus intervalos de confianza (IC) del 95%.

El proyecto fue aprobado por el comité de investigación del hospital y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los padres o tutores.

## RESULTADOS

Se hizo seguimiento de un total de 54 prematuros, dos de ellos se excluyeron por fallecer antes de obtener todas las muestras de LPO y otros dos por fallecer en las primeras 2 semanas tras iniciarse la evaluación oftalmológica. Así pues, se incluyeron en el análisis 50 recién nacidos prematuros.

De sus antecedentes maternos de importancia se consideraron la presencia de preeclampsia, la cual se encontró en el 56% de los casos, y la presencia de infección urinaria, que se encontró en el 10%. La edad gestacional promedio fue de  $28,9 \pm 1,1$  semanas con un rango de 27 a 32 semanas y un peso promedio de  $1.035 \pm 0,112$  g, con un rango de 0,790 a 1,420 g. Estos valores, así como la calificación de Apgar tanto al minuto como a los 5 min, se muestran en la tabla 1.

Las patologías motivo de su ingreso a la unidad fueron: síndrome de dificultad respiratoria (SDR), 32/50 (64%); neumonía intrauterina 10/50 (20%); taquipnea transitoria del recién nacido, 5/50 (10%), y sospecha de sepsis, 3/50 (6%).

Las curvas COR determinaron un valor de corte de 2,40 nmol/ml, a partir del cual se consideró que los LPO estaban elevados (este valor es mayor que el promedio de los niveles de LPO obtenido en prematuros sanos, en un estudio previamente comunicado por nosotros<sup>24</sup> en el que se utilizó la misma técnica para la determinación de LPO).

La incidencia de ROP en la cohorte de estudio fue del 22% (11/50). De acuerdo con la clasificación de la ICROP, 10 prematuros presentaron enfermedad preumbral y sólo uno presentó enfermedad umbral (tabla 2).

Las principales diferencias estadísticamente significativas entre aquellos que desarrollaron ROP (11/50) y quienes no la desarrollaron (39/50) se observan en los valores de LPO en la primera determinación ( $6,89 \pm 3,49$  nmol/ml frente a  $3,89 \pm 3,52$  nmol/ml) y en los de la cuarta determinación ( $4,36 \pm 2,07$  nmol/ml frente a  $2,94 \pm 2,40$  nmol/ml) (tabla 3).

Al separar los grupos entre aquellos que desarrollaron ROP y quienes no, el promedio de las cuatro determinaciones fue de  $5,44 \pm 1,30$  en aquéllos con ROP y de  $2,94 \pm 0,89$  nmol/ml en aquéllos sin ROP, respectivamente, con una diferencia estadísticamente significativa,  $p = 0,00001$ .

Para evaluar la asociación entre el nivel elevado de LPO y la presencia de ROP, se calculó su RR y su IC del 95 %, para cada una de las muestras por semana. Se encontró que, en las muestras de las primeras 2 semanas, a pesar de que los valores de RR fueron cinco veces superiores al riesgo de presentar ROP, no existe diferencia estadísticamente significativa, ya que sus IC incluían la unidad en sus resultados. No así en las segundas 2 semanas, en las que los RR fueron de 4,15 y de 12,7, veces más el riesgo de presentar ROP, si los valores de LPO fueran mayores al punto de corte de 2,40 nmol/ml, con diferencia estadísticamente significativa (tabla 4).

Si bien el estudio no se diseñó para buscar qué factores de riesgo están asociados a ROP, un hallazgo interesante fue que en los prematuros que recibieron ventilación mecánica, la incidencia de ROP fue del 40 %, en comparación con el 4 % de aquellos que no fueron ventilados. Los valores promedio de todas las muestras de LPO, para el grupo con ventilación y sin ventilación respectivamente, fueron de  $5,25 \pm 1,55$  nmol/ml y de  $1,66 \pm 0,66$  nmol/ml, con una  $p = 0,01$ . En la tabla 5, se observan los valores de cada una de las muestras por semana y sus diferencias estadísticas entre estos dos grupos.

## DISCUSIÓN

La ROP es la enfermedad ocular más frecuente en la etapa neonatal. Su incidencia varía de un hospital a otro. Se ha visto una incidencia menor del 20 % en prematuros entre 28 y 35 semanas y del 70 al 80 % en prematuros menores de 28 semanas de gestación<sup>3,4</sup>. En nuestro estudio la incidencia del grupo analizado fue del 22 %. Habrá que mencionar que esta incidencia aparentemente elevada para este grupo de edad y peso, con respecto a otros informes, corresponde exclusivamente al grupo de estudio al que se le dio seguimiento y que cumplieron con los requisitos de inclusión, por lo que esta incidencia es real sólo para el grupo estudiado. Esta incidencia es obtenida de acuerdo a lo que Sola et al<sup>4</sup>, sugirieron recientemente para estandarizar la forma en la que se comunica la incidencia de ROP; esto es, la frecuencia de ROP en el numerador, el número total de prematuros evaluados de forma correcta, en el denominador y el resultado multiplicarlo por 100, ya que de esta manera se puede comparar de forma adecuada una unidad con otra.

Se han utilizado diferentes métodos para medir el estrés oxidativo, con la finalidad de asociar las concentraciones elevadas de radicales libres con enfermedades en el recién nacido. Pitkanen et al<sup>25</sup> encontraron en su estudio niveles altos de etano y pentano en aire espirado en prematuros

TABLA 4. Riesgo relativo de desarrollar ROP con concentraciones elevadas de LPO

Semana	Prematuros con LPO (nmol/mL)		Riesgo relativo	IC 95 %
	> 2,40	< 2,40		
1. <sup>a</sup>	33	17	5,15	0,72-36,96
2. <sup>a</sup>	32	18	5,63	0,78-40,45
3. <sup>a</sup>	26	24	4,15	1,03-92,03
4. <sup>a</sup>	22	28	12,70	1,76-93,03

ROP: retinopatía del prematuro; LPO: lipoperoxidos séricos; IC 95 %: intervalo de confianza del 95 %.

TABLA 5. Comparación entre grupo con y sin ventilación mecánica

Semana	Grupo con ventilación Incidencia de ROP 40 % (10/25) LPO (nmol/ml)	Grupo sin ventilación Incidencia de ROP 4 % (1/25) LPO (nmol/ml)	Prueba de U de Mann-Whitney Valor de p
1. <sup>a</sup>	$7,41 \pm 2,98$	$1,71 \pm 1,46$	0,01
2. <sup>a</sup>	$5,33 \pm 2,24$	$2,22 \pm 2,42$	0,01
3. <sup>a</sup>	$3,89 \pm 2,27$	$1,99 \pm 2,62$	0,01
4. <sup>a</sup>	$4,39 \pm 2,90$	$0,72 \pm 1,39$	0,01
Promedio de todas las muestras	$5,25 \pm 1,55$	$1,66 \pm 0,66$	0,001

ROP: retinopatía del prematuro; LPO: lipoperoxidos.

que requirieron ventilación mecánica asistida. Varsila et al<sup>18</sup> hablan de concentraciones de etano y pentano en aire espirado en neonatos que desarrollaron displasia broncopulmonar y ROP. Recientemente, Weinberger et al<sup>26</sup> relacionaron el estrés oxidativo con enfermedades por RLO, solo que, se tenía el antecedente de aplicación de beta-metasona antenatal y se utilizó una medida indirecta para medir malondialdehído, como fue la determinación urinaria de sustancias del ácido tiobarbitúrico. Todas estas pruebas miden de forma indirecta el efecto de los radicales libres sobre las células.

En este estudio, se utilizó un método que mide directamente las sustancias producidas por el efecto de los radicales libres, sobre los lípidos de la membrana celular, como son los LPO, por lo que los resultados obtenidos muestran de una manera más clara el estrés oxidativo.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores promedio de LPO, entre los que presentaron ROP y los que no la presentaron, con  $p = 0,00001$ . Dentro de las muestras, se observó que sólo en la primera y en la cuarta semanas prevalecían estas diferencias, no así en la segunda y tercera semanas. Una posible explicación de estos datos podría ser que en la primera semana, algunos de estos prematuros tuvieron patologías más graves, que generan mayor producción de RLO y que

con el tratamiento de la enfermedad mejoraron en la segunda semana. Posteriormente, algunos de ellos pudieron haber presentado procesos infecciosos, apneas o cualquier otro suceso, que incrementó la producción de RLO y con ello se explicaría la elevación de LPO observadas, en las siguientes muestras.

Estos resultados también se relacionan con lo encontrado en los RR. Se observa que valores de RR son clínicamente significativos para la primera y segunda semanas (RR: 5,15 y 5,63, respectivamente), pero sin diferencia estadística, ya que los valores de los IC incluyen la unidad. Las diferencias en las muestras de la tercera y cuarta semanas son clínica y estadísticamente significativas, con valores de RR de 4,15 y de 12,7, respectivamente. Estos datos podrían explicar un probable efecto acumulativo de sucesos, que mantienen las concentraciones de LPO persistentemente altas, o que se incrementan, por lo que los niveles de LPO elevados entre la tercera y cuarta semanas de vida podrían ser los valores que más se asocian al desarrollo de ROP.

Se ha documentado que los prematuros tienen menor capacidad antioxidante<sup>27-29</sup> y que la exposición a uno o a varios factores como ventilación mecánica o infecciones, entre otros, incrementan el estrés oxidativo.

En el análisis final de este estudio, decidimos separar la cohorte entre aquellos prematuros que recibieron ventilación mecánica asistida como parte de su tratamiento y quienes no la recibieron. Los resultados muestran diferencias estadísticamente significativas en los valores de LPO, así como la mayor frecuencia de ROP, lo que apoyaría la teoría del origen multifactorial y el probable efecto acumulativo de sucesos, con el consecuente desarrollo de ROP.

Esto es similar a lo comunicado recientemente por Kim et al<sup>30</sup>, quienes encontraron que la ventilación mecánica, los sucesos de apnea y el uso de surfactante son importantes factores de riesgo independientes para desarrollar la ROP. Hay que mencionar que el diseño del estudio no se realizó para evaluar factores de riesgo, por lo que el resultado de este hallazgo debe ser considerado sólo como interesante y hay que probar con otros diseños y análisis estadísticos.

Los resultados muestran una asociación entre las concentraciones elevadas de LPO como una forma de medir el estrés oxidativo y la incidencia de la ROP. El objetivo del estudio fue evaluar si dicha asociación se presentaba, independientemente de todos aquellos factores de riesgo que de forma conjunta o independiente se han asociado al desarrollo de la ROP, ya que un punto en el que todos convergen es en el que, potencialmente, todos pueden producir, en mayor o menor medida, una elevación en los radicales libres y por ende aumentar el estrés oxidativo. La importancia de estos resultados es que al existir una asociación entre las concentraciones elevadas de LPO y la ROP, independientemente de qué

factores influyeron en su aumento (ventilación, sepsis, entre otros), los esfuerzos se podrán encaminar no sólo a tratar de disminuir los factores de riesgo, sino también a disminuir la producción de LPO, mediante anti-oxidantes y/o disminuir sus efectos en las membranas celulares.

En conclusión, estos datos pueden resultar útiles en la práctica clínica, al definir estrategias para disminuir las concentraciones de LPO o sus efectos, independientemente de los factores que condicionan estrés oxidativo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Reynolds JD, Dobson V, Kuinn GE. Evidence-Base Screening for Retinopathy of Prematurity. Natural History Data from the CRYO-ROP and LIGTH-ROP studies. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 2003;40:60.
2. Fielder AR, Shaw DE, Robinson J, Ng YK. Natural history of retinopathy of prematurity. A prospective study. *Eye*. 1992;6:233-42.
3. Martin Begue N, Perapoch LJ. Retinopathy of Prematurity: Incidence, severity and outcome. *An Pediatr*. 2003;58:156-61.
4. Sola A, Chow L, Rogido M. Retinopatía de la prematuridad y oxigenoterapia: una relación cambiante. *An Pediatr (Barc)*. 2005;62:48-61.
5. Nair PM, Ganesh A, Mitra S, Ganguly SS. Retinopathy of prematurity in VLBW and extreme LBW babies. *Indian J Pediatr*. 2003;70:303-6.
6. Saugstad OD. Oxygen toxicity in the neonatal period. *Acta Pediatr Scand*. 1990;79:881-92.
7. Weinberger B, Laskin DL, Heck DE, Laskin JD. Oxygen Toxicity in premature infants. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2002;18:60-7.
8. Sinha SK, Tin W. Controversies surrounding oxygen therapy in neonatal intensive care units. *Curr Opin Pediatr*. 2003;15:161-5.
9. Tin W, Wariyar U. Giving small babies oxygen. 50 years of uncertainty. *Semin Neonat*. 2002;7:361-7.
10. Halliwell J. Reactive oxygen species in living systems. Source, Biochemistry, and roles in human disease. *Am J Med*. 1991; Suppl C:14-228.
11. Holmstrom G, Broberger U, Thomassen P. Neonatal risk factors for retinopathy of prematurity a population-based study. *Acta Ophthalmol Scand*. 1998;76:204-7.
12. Bast AL, Guido RM, Haenen M, Cees J. Oxidants and antioxidants: State of Art. *Am J Med*. 1991; Suppl 3C:2-16.
13. Pilcher J. Free Radicals. *Neonatal Netw*. 2002;21:33-7.
14. Dormandy TL. In praise of peroxidation. *Lancet*. 1988;12: 1126-8.
15. Bravo CA, Ramos DME, Gómez EH, Orbach AS. Pulmonary toxicity of oxygen. *Biomed & Pharmacother*. 1990;44:435-7.
16. Sies H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am J Med*. 1991;92 Suppl 3C:31-89.
17. Satman P. Oxidative stress: A radical view. *Sem Haematol*. 1989; 26:249-56.
18. Varsila E, Hallman M, Anderson S. Free radical-induced lipid peroxidation during the early neonatal period. *Acta Pediatr*. 1994;83:12-6.
19. Stout AU, Stout JT. Retinopathy of Prematurity. *Pediatr Clin North Am*. 2003;50:77-87.



20. Cooke RW, Drury JA, Brusse GA. Lipid peroxidation as a measure of oxygen free radical damage in the very low birth weight infant. *Arch Dis Child.* 1994;71:234.
21. Inder TE, Graham P, Sanderson K, Taylor BJ. Lipid peroxidation as a measure of oxygen free radical damage in the very low birth weight infant. *Arch Dis Child.* 1994;70:1-11.
22. Ballard JL, Khoury JC, Weding K, Wang L, Eilers-Waisman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr.* 1991;119:417.
23. The Committee for the Classification of Retinopathy of Prematurity. An International Classification of Retinopathy of Prematurity. *Arch Ophthalmol.* 1984;102:1130-4.
24. Cervantes MR, Valle RF, Gómez CP, Hernández FG, Orbach AS, Bravo CA. Lipoperoxydes sériques chez la femme enceinte et le nouveau-né à terme et prématuré. *Presse Médicale.* 2000;29:788.
25. Pitkanen M, Halman M, Anderson M. Correlation of free radical induced lipid peroxidation with outcome in very low birth weight infant. *J Pediatr.* 1990;116:760-4.
26. Weinberger B, Anwar M, Henien S, Sosnovsky A, Hiat M, Jochonowitz N, et al. Association of lipid peroxidation with antenatal betamethasone and oxygen radical disorders in preterm infants. *Biol Neonate.* 2004;85:121-7.
27. Sullivan JL, Newton RB. Serum antioxidant activity in neonates. *Arch Dis Child.* 1988;63:748-57.
28. Huertas JR, Palomino N, Ochoa JJ, Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Battino M, et al. Lipid peroxidation and antioxidants in erythrocyte membranes of full term and preterm newborns. *BioFactors.* 1998;8:133-7.
29. Bravo CA, Pérez MR, Orozco VF, Astengo OC, Orbach AS. Activité de la superoxyde dismutase érythrocytaire mesurée chez les femmes pendant la grossesse normale ou á haute risque, et chez les nouveau-nés á terme ou prématurés. *Press Médicale.* 1995;24:1360.
30. Kim TI, Shon J, Pi SY, Ion YH. Postnatal risk factors of retinopathy of prematurity. *Paediatr Perinat Epidemiol.* 2004;18:130-4.