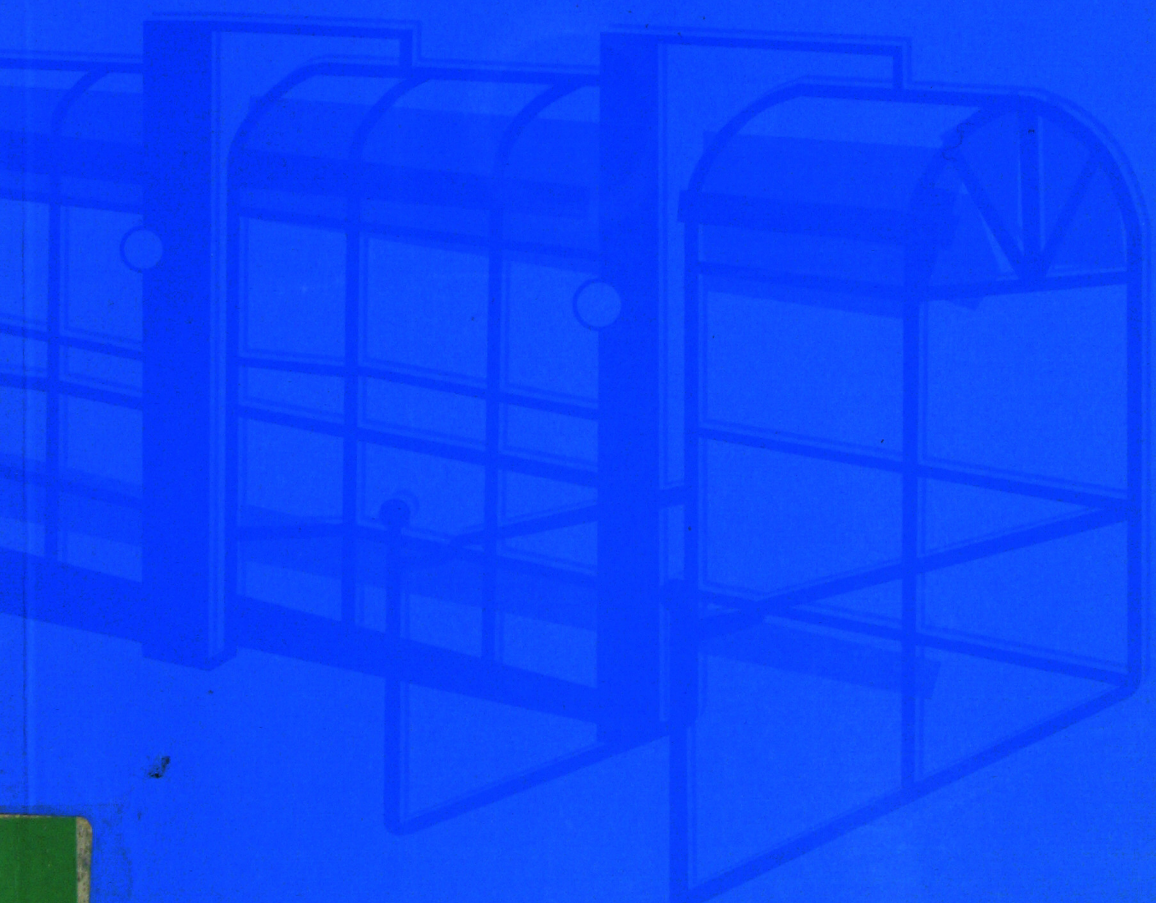
José M.ª Medina

Prematuridad y Daño Cerebral



DOCUMENTOS · 35/93

- 9 JUL. 1993

R. 8793

SiiS
Reina Regente, 5 - Bajo
Apdo. 667
20003 - SAN SEBASTIAN

PREMATURIDAD Y DAÑO CEREBRAL

José Mª Medina
Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular
Facultad de Farmacia
Universidad de Salamanca

PREMATURIDAD Y DAÑO CEREBRAL

. **DOCUMENTOS 35/93**

. **AUTOR:** José Mª Medina

. **EDITA:** Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía

. **CUIDADO DE LA EDICION Y DISTRIBUCION:** SIIS. Centro de documentación e información, concertado con el Real Patronato de Prevención y de Atención a Personas con Minusvalía. Serrano, 140. 28006 MADRID.

. **IMPRIME:** Artegraf. Sebastián Gómez, 5. 28026 Madrid

. Primera edición: Marzo de 1993. 1.000 ejemplares

NIPO: 380-93-002-2
Depósito legal: M. 8.944-1993

Agradecimientos

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento al Real Patronato de Prevención y Atención a Personas con Minusvalía por haberme otorgado el Premio Reina Sofía 1992, de investigación sobre prevención de las deficiencias, así como a la Fundación "Pedro Barrié de la Maza", que lo dotó. Esta distinción me servirá de estímulo para continuar trabajando en este apasionante campo.

Las publicaciones que presentamos son el resultado de ***15 años*** de trabajo de investigación ininterrumpido, dedicado al estudio del metabolismo del recién nacido y su relación con la morbi-mortalidad perinatal. En el trabajo, dirigido por José Mª Medina Jiménez, han colaborado, primero en la Universidad Autónoma de Madrid y luego en la Universidad de Salamanca, los siguientes investigadores:

Almeida, A.
Alonso de la Torre, S.R.
Alvarado, F.
Arizmendi, C.
Arranz, L.
Benito, M.
Bolaños, J.P.
Caldés, T.
Caro-Patón T
Clark, J.B.
Cuezva, J.M.
Fernández, E.
García, M.V.
González, M.
Juanes, M.C.
López-Mediavilla, C.
Lorenzo, M.
Martín, A.
Martín-Barrientos, J.
Matíes, M.
Malloch, G.
Mayor, F.
Moreno, F.
Orfao, A.
Rodríguez-Figueroa, M.C.
Rosario, P.
Ruiz, M.A.
Serrano, M.A.
Tabernero, A.
Valcarce, C.
Vicario, C.
Williamson, D.H.

SUMARIO

RESUMEN 7

INTRODUCCION 13

CAPITULO I. BASES MOLECULARES DE LA PREMATURIDAD 19

1. PREPARACION FETAL PREPARTUM 21

1.1. Preparación tisular para la vida extrauterina 21
1.1.1. Desarrollo pulmonar. Síntesis del surfactante 21
1.1.2. Lipogénesis cerebral "prepartum" 25

1.2. Prioridades energéticas y encauzamiento de los sustratos 25
1.3. Preparación de la maquinaria metabólica para la vida extrauterina 27
1.4. Acúmulo de reservas energéticas 29

2. ADAPTACION DEL METABOLISMO MATERNO AL DESARROLLO DEL CONCEPTUS 34

2.1. Cambios en el metabolismo materno durante el último período de la gestación 34
2.1.1. Adaptación de la lipogénesis "de novo" de los tejidos maternos al desarrollo del "conceptus" 34
2.1.2. Inducción de la cetogénesis en la gestante 36
2.1.3. Suministro de glucosa al feto. Aumento de la glucogénesis materna 41

2.2. Suministro de sustratos al feto. Lipogénesis placentaria 46

3. INFLUENCIA DE FACTORES NUTRICIONALES EN EL DESARROLLO MATERNO-FETAL 50

3.1. Influencia del ayuno materno 52
3.2. Influencia de la diabetes materna 52
3.3. Efecto del suplemento de glucosa 52
3.4. Influencia del tratamiento materno con glucocorticoides 55

CAPITULO II. HOMEOSTASIS ENERGETICA PERINATAL 59

1. ADAPTACION METABOLICA DE LA VIDA EXTRAUTERINA 60

2. HOMEOSTASIS ENERGETICA DEL CEREBRO 65

CAPITULO III. VULNERABILIDAD BIOQUIMICA DEL NEONATO PREMATURO 83

1. PREMATURIDAD Y MORTALIDAD POSTNATAL 83

2. HANDICAPS METABOLICOS DEL NEONATO PREMATURO 84

2.1. Inmadurez endocrina del neonato prematuro 84
2.2. Indigencia glucídica del neonato prematuro 87
2.3. Hipoxia e hiperamonemia postnatal del neonato prematuro 90
2.4. Hipoxia e hiperlactiacidemia postnatal del neonato prematuro 94

3. REMISION DE LA HIPOXIA POR TRATAMIENTO MATERNO CON DEXAMETASONA 100

4. PREMATURIDAD E INSUFICIENCIA DE SURFACTANTE PULMONAR 104

5. OCLUSION DEL DUCTUS ARTERIOSO E HIPOXIA POSTNATAL 105

6. PREMATURIDAD Y DAÑO CEREBRAL 106

REFERENCIAS 109

RESUMEN

Incluso en los países más avanzados, existe un número considerable de casos de subnormalidad profunda (aproximadamente el 15% del total), así como de subnormalidad de tipo medio (entre el 18 y el 40%), relacionados todos ellos, directa o indirectamente, con disfunciones perinatales de la maquinaria metabólica. Estos datos llaman poderosamente la atención si consideramos el extraordinario cuidado perinatal que se practica en la actualidad en los países de nuestro entorno, con pocas restricciones en lo que se refiere a los recursos económicos empleados en este campo y de una baja natalidad nacional.

Son díficiles de determinar, por el momento, las causas de la persistencia de este alto porcentaje de casos de retraso mental relacionados con algún trastorno ocurrido durante el período perinatal. Sin embargo, parece claro que nuestro conocimiento sobre los cambios metabólicos que tienen lugar durante la vida fetal tardía, o durante la vida neonatal temprana, son claramente insuficientes, no ya para evitar o curar, sino siquiera para diagnosticar la etiología de ciertos casos de retraso mental imputables a un episodio indeseable ocurrido durante este período. Por otro lado, parece evidente que ha aumentado la incidencia de factores que, presumible o constatablemente, son causas directas de trastornos metabólicos del feto y del recién nacido. Y no nos referimos sólo al aumento de la ingesta de alcohol y xenobióticos sino, muy especialmente, a la mayor frecuencia del parto prematuro.

El estudio de las causas del aumento de la incidencia del parto prematuro se sale del objetivo del presente trabajo. Sin embargo, podemos afirmar que a las causas "tradicionales" del parto prematuro, tales como el trauma físico o psíquico, accidentes fetales, etc., hay que sumar en la actualidad la frecuente aparición de casos de senescencia placentaria anticipada, que determinan la presentación prematura del parto. Sea como fuere, el número de niños que acceden a la vida extrauterina en condiciones de inmadurez anatómica, fisiológica o bioquímica es cada día mayor en nuestra sociedad actual. Como hemos mencionado antes, desconocemos en líneas generales las causas del aumento de la incidencia del parto prematuro. Sin embargo, lo que parece un hecho indudable es que el nacimiento prematuro supone un aumento del riesgo perinatal, que incide directamente en la mayor vulnerabilidad del recién nacido y, por consiguiente, en el aumento de la morbi-mortalidad postnatal. Por este motivo, el objetivo principal del presente trabajo ha consistido en intentar acercarnos a los problemas metabólicos que se presentan cuando el feto, aún inmaduro, es expuesto a los rigores fisicoquímicos de la vida extrauterina.

El lactato como sustrato metabólico del recién nacido

Resulta sorprendente que la Naturaleza parezca ocultar alguno de sus más importantes misterios tras un hecho trivial, que desvía el interés de los investigadores hacia otros aspectos aparentemente más importantes, sin prestar atención al verdadero fenómeno que existe detrás de tan inocente máscara. Este es el caso del papel que juega el lactato durante el período perinatal. En este sentido, el descubrimiento de que la concentración de lactato en sangre del recién nacido es un índice de sufrimiento perinatal, pone de manifiesto el valor diagnóstico de la lactiacidemia, pero a la vez, se convierte en una "maniobra de diversión", tras la que se oculta el verdadero significado del lactato en la supervivencia postnatal.

En efecto, nuestros primeros resultados demostraron que el lactato se acumula en la sangre del recién nacido, no sólo en situaciones patológicas, sino también en la sangre del neonato normal, es decir, aquél que accedió a la vida extrauterina en circunstancias absolutamente fisiológicas. Pero aún más sorprendente: el lactato que se ha acumulado en sangre durante la vida fetal y primeros minutos de vida extrauterina, se consume rápidamente, en un proceso de verdadera importancia en la adaptación a la vida extrauterina. De hecho, la hiperlactiacidemia que se presenta en circunstancias patológicas es debida más a la inhibición del consumo de lactato, que a la hiperproducción de éste como consecuencia de la activación de la glucolisis anaerobia. La primera conclusión de estos resultados es que la condición "patológica" de la hiperlactiacidemia no es debida tanto a la acumulación del lactato, como a la inhibición de su propia utilización. Este hecho, lejos de ser un "matiz" bioquímico de puro interés académico, tiene una extraordinaria importancia. En efecto, si el lactato se consume en condiciones normales, puede tratarse no sólo de un índice semiológico importante, sino también de un sustrato para el crecimiento de los tejidos neonatales en un período tan crítico como es el que sigue inmediatamente al nacimiento. Es más, si en situaciones patológicas el lactato no se consume, los tejidos neonatales pueden verse privados de la energía que deriva del metabolismo del lactato.

El neonato consume lactato sin convertirlo previamente en glucosa

Cualquier estudiante de bioquímica sabe, sin embargo, que el lactato es un excelente sustrato gluconeogénico, es decir, que puede transformarse en glucosa mediante un proceso que es muy activo cuando el suministro de glucosa está seriamente disminuído. Es más, la hipoglucemia es un fenómeno fisiológico en el recién nacido, lo que indica que las disponibilidades de glucosa están muy limitadas en estas circunstancias. Por consiguiente, todo parecía indicar, en un principio, que el lactato se consumía inmediatamente tras el nacimiento, mediante su transformación en glucosa a través de la vía gluconeogénica. Sin embargo, esta hipótesis de trabajo fue falseándose paulatinamente, a la vista de los resultados

obtenidos en nuestro propio laboratorio. En primer lugar, observamos que la actividad de las principales enzimas gluconeogénicas era muy baja como para dar cuenta del extraordinario consumo de lactato observado en nuestros experimentos. Más tarde demostramos que la síntesis de glucosa a partir de lactato era prácticamente indetectable durante el período en el que el consumo de lactato era más ostensible. Este hecho explicaba nuestros resultados previos, en los que no se observaba incorporación de lactato en glucosa o glucógeno durante la utilización postnatal de lactato. Precisamente estos últimos resultados abrieron la definitiva puerta a nuestra investigación, al demostrar que el lactato tenía un destino metabólico muy diferente al de su transformación en glucosa. Demostramos, en efecto, que el lactato se oxidaba mayoritariamente en el ciclo de Krebs, lo que indicaba claramente que el lactato era un sustrato energético directo para los tejidos neonatales.

El lactato se utiliza como sustrato energético y plástico

Este último hecho infligía un duro golpe al concepto de que la lactiacidemia era simplemente un síntoma patológico. Por el contrario, nuestros resultados demostraban que el lactato servía, -como la glucosa y los cuerpos cetónicos-, al desarrollo de los tejidos neonatales y que, por consiguiente, cualquier trastorno en su metabolismo podía conducir a efectos deletéreos en el recién nacido. Nuestro interés por el lactato creció aún más al descubrir que el lactato también servía como precursor de lípidos, cuya síntesis es muy activa durante el desarrollo. Este hecho es muy importante si pensamos que los lípidos constituyen, junto con las proteínas, los principales componentes de las estructuras cerebrales, jugando un papel importantísimo en la formación de las estructuras neuronales, así como en las de astrocitos u oligodentrocitos. Definitivamente, el lactato se señalaba como el sustrato puente que une la nutrición trasplacentaria con la lactancia, sustituyendo a la glucosa durante el período postnatal inmediato, y abriendo paso a la utilización posterior de ácidos grasos y cuerpos cetónicos. En otras palabras, el lactato es el único sustrato disponible inmediatamente tras el nacimiento, sirviendo de fuente de energía y esqueletos carbonados durante el período de máxima vulnerabilidad postnatal.

El cerebro utiliza lactato como sustrato preferente

La vulnerabilidad de los tejidos neonatales es máxima inmediatamente tras el nacimiento, puesto que, en estas circunstancias, el neonato tiene que mantener su tasa metabólica a costa de sus propias y escasas reservas. Sin embargo, el caso del cerebro es especialmente delicado dado que, durante este período, se llevan a cabo etapas decisivas en su desarrollo. No es necesario recordar que el desarrollo del cerebro está constituído por una serie de etapas estrictamente sincronizadas y

secuenciadas, en las que ningún paso puede omitirse o retrasarse, so pena de causar secuelas irreversibles. Tal es la servidumbre de este extraordinario proceso, - en que las células proliferan y emigran, se diferencian y se relacionan molecularmente e incluso, mueren-, en el curso del irreversible camino hacia la consecución de un tejido de extraordinaria complejidad y capacidad. Frente a los demás tejidos del neonato, que pueden adecuar el "tempo" de su desarrollo a la posible disponibilidad de sustratos metabólicos, el cerebro debe continuar su desarrollo con independencia de la fluctuación del suministro de sustratos.

Se comprende, pues, nuestro interés por conocer si el lactato era utilizado en el desarrollo del cerebro durante la etapa inmediatamente postnatal. En efecto, desde los primeros ensayos, nuestros resultados mostraron claramente que el lactato es el sustrato más importante del cerebro en estas circunstancias, siendo preferido a la glucosa y a los cuerpos cetónicos. Lo inesperado de este hecho nos obligó a comprobarlo en cortes de cerebro incubados *in vitro*, células aisladas de cerebro y, más recientemente, en neuronas y astrocitos en cultivo primario. En apoyo del significado fisiológico de estos resultados, observamos que el lactato inhibe la utilización de glucosa, lo que sugiere que el lactato ocupa el lugar de la glucosa como sustrato metabólico universal, reservando, en estas circunstancias, la glucosa para destinos muy específicos, tales como la glicerogénesis, ciclo de las pentosas fosfato o la síntesis de glicolípidos. De estos hechos se infiere que el lactato mantiene el desarrollo del cerebro durante la etapa que sigue inmediatamente al nacimiento, siendo el principal sustrato para la proliferación y diferenciación de neuronas y astrocitos.

Inhibición de la utilización de lactato en el neonato prematuro

Al ponerse de manifiesto la importancia del lactato como sustrato del cerebro en desarrollo, otro hecho muy importante tomó carta de naturaleza. En efecto, si la utilización de lactato es tan decisiva en el desarrollo cerebral, aquellas situaciones patológicas que cursan con hiperlactiacidemia pueden resultar en secuelas irreversibles de origen neurológico. Nuestro interés se centró, pues, en el estudio de aquellas situaciones en que habíamos observado hiperlactiacidemia, especialmente, del neonato prematuro, hipóxico, hipotérmico o con "ductus arterioso patente".

La puesta a punto de un modelo experimental de prematuridad nos permitió comprobar que el neonato prematuro presenta altas concentraciones de lactato en sangre, hecho que se acompaña de una clara resistencia a su utilización. Considerando nuestros resultados anteriores sobre el destino del lactato, parecía claro que el cerebro del prematuro carecía de la energía y precursores necesarios para su normal desarrollo. De hecho, este fenómeno podía constituir la principal minusvalía metabólica del recién nacido prematuro, puesto que indicaba que el

nacido pretérmino estaba sometido a una situación de precariedad metabólica conducente, posiblemente, a daños irreparables en el cerebro. Por consiguiente, nos planteamos el estudio de este fenómeno, comenzando por la investigación del origen de la hiperlactiacidemia.

Dado que el lactato requería oxígeno para su total aprovechamiento, nuestra atención se centró en la hipoxia que el prematuro presenta en las horas siguientes al nacimiento. En efecto, la correlación existente entre la concentración de oxígeno y la de lactato en sangre del recién nacido prematuro era extraordinariamente significativa, confirmando el hecho de la asociación causa-efecto entre la hipoxia y la hiperlatiacidemia del prematuro. Faltaba por conocer el origen de la hipoxia del prematuro. Dos posibilidades se nos presentaban como probables: la presencia de "ductus arterioso patente" que transitoriamente sufre el recién nacido prematuro o, alternativamente, la existencia de un déficit en surfactante pulmonar. Ambas posibilidades producirían finalmente hipoxia, la primera por la persistencia de la circulación fetal, y la segunda, por disfunción respiratoria.

Un delicado modelo de "ductus arterioso patente", en rata, nos permitió descartar este síndrome como origen de la hipoxia del prematuro, dado que el retraso en la oclusión del "ductus" es muy ligero en el prematuro, y no puede dar cuenta de la severa hipoxia que presenta este tipo de recién nacido. Por el contrario, el déficit de surfactante, es decir, el déficit de este sofisticado componente lipoproteico que tapiza el lumen del alveolo pulmonar, estaba directamente relacionado con la hipoxia. En efecto, el tratamiento con dexametasona, no solamente incrementa la concentración pulmonar de surfactante, sino que consigue remitir considerablemente la hipoxia. En definitiva, la hipoxia del recién nacido prematuro estaba causada por la disfunción del transporte de oxígeno que tiene lugar a través de las membranas pulmonares, lo que, finalmente, resulta en la hiperlactiacidemia por inhibición del consumo de lactato. Nuestros experimentos relativos al efecto de la dexametasona sobre la hipoxia postnatal del prematuro nos permitieron, además, constatar la existencia de una relación directa entre el contenido pulmonar de surfactante y la mortalidad postnatal. Se trata de una evidencia directa que señala a la hipoxia, y subsecuente hiperlactiacidemia, como la etiología molecular de la morbi-mortalidad del prematuro.

Prematuridad, hipoxia y daño cerebral

En estos resultados subyace la idea de la existencia de una relación causa-efecto entre prematuridad y daño cerebral. Sin embargo, la sucesión de eventos bioquímicos que trascurre entre uno y otro es extraordinariamente compleja, lo que pone de manifiesto que los fenómenos fisiológicos están siempre engarzados lógicamente aunque, a veces, el desconocimiento de un eslabón dé al traste con

nuestros más sofisticados razonamientos. En el caso que nos ocupa, todo comienza aparentemente con la interrupción de la gestación antes de su término natural. El neonato se expone a los rigores fisicoquímicos de la vida extrauterina con importantes hándicaps bioquímicos. Por un lado, carece de suficientes reservas glucídicas, y las disponibles, tardan en movilizarse a causa de la insuficiente secreción de glucagón y el tardío aclaramiento de la hiperinsulinemia fetal. Por otro, el parto prematuro interrumpe, en un momento crítico, la síntesis del surfactante pulmonar, componente alveolar esencial para la adquisición del oxígeno atmósférico. El resultado inevitable de este déficit en surfactante, es la hipoxia y la subsecuente hiperlactiacidemia. El lactato plasmático, que constituye una reserva energética importantísima durante los momentos que siguen al parto, no puede ser utilizado por falta de oxígeno. De esta manera, no sólo persiste la acidosis y su posible morbilidad, sino que los tejidos neonatales se ven privados de su casi exclusivo sustrato en estas circunstancias, es decir, del lactato. Este hecho se ve agravado por la ausencia de sustratos alternativos pues, como hemos mencionado, las disponibilidades de glucosa están muy restringidas. En otras circunstancias se tomarían medidas para preservar al cerebro de este déficit energético. Sin embargo, el lactato, que constituye el principal sustrato del cerebro en circunstancias normales, no puede ser utilizado como fuente de energía, dada la falta de oxígeno. Presumiblemente, el desarrollo cerebral queda paralizado, puesto que la hipoxia inhibe, casi absolutamente, la lipogénesis "de novo". Si la hipoxia continúa, una multitud de sucesos patológicos tendrán lugar inevitablemente, causando la fatal paralización de la maquinaria metabólica. Sin embargo, nuestros resultados indican que si el prematuro respira oxígeno puro, el consumo de lactato se restablece normalmente. Por consiguiente, la administración de moderadas cantidades de oxígeno puede beneficiar extraordinariamente la situación del recién nacido prematuro pues, a la vez que permite al cerebro el consumo de su sustrato más idóneo, colabora en la rápida remisión de la acidosis.

INTRODUCCION

Incluso en los países más avanzados, existe un número considerable de casos de subnormalidad profunda (aproximadamente el 15% del total), así como de subnormalidad de tipo medio (entre el 18 y el 40%), relacionados todos ellos, directa o indirectamente, con disfunciones perinatales de la maquinaria metabólica. Estos datos llaman poderosamente la atención si consideramos el extraordinario cuidado perinatal que se practica en la actualidad en los países de nuestro entorno, con pocas restricciones en cuanto se refiere a los recursos económicos empleados en este campo y con una baja natalidad nacional.

Son díficiles de determinar, por el momento, las causas de la persistencia de este alto porcentaje de casos de retraso mental relacionados con algún trastorno ocurrido durante el período perinatal. Sin embargo, parece claro que nuestro conocimiento sobre los cambios metabólicos que tienen lugar durante la vida fetal tardía, o durante la vida neonatal temprana, son claramente insuficientes, no ya para evitar o curar, sino siquiera para diagnosticar la etiología de ciertos casos de retraso mental imputables a un episodio indeseable ocurrido durante este período. Por otro lado, parece evidente que ha aumentado la incidencia de factores que, presumible o constatablemente, son causas directas de trastornos metabólicos del feto y del recién nacido. Y no nos referimos sólo al aumento de la ingesta de alcohol y xenobióticos sino, muy especialmente, a la mayor frecuencia del parto prematuro.

El estudio de las causas del aumento de la incidencia del parto prematuro se sale del objetivo del presente trabajo. Sin embargo, podemos afirmar que a las causas "tradicionales" del parto prematuro, tales como el trauma físico o psíquico, accidentes fetales, etc, hay que sumar en la actualidad la frecuente aparición de casos de senescencia placentaria anticipada que determinan la presentación prematura del parto. Sea como fuere, el número de niños que acceden a la vida extrauterina en condiciones de inmadurez anatómica, fisiológica o bioquímica es cada día mayor en nuestra sociedad actual. Como hemos mencionado antes, desconocemos en líneas generales las causas del aumento de la incidencia del parto prematuro. Sin embargo, lo que parece un hecho indudable es que el nacimiento prematuro supone un aumento del riesgo perinatal que incide directamente en la mayor vulnerabilidad del recién nacido y, por consiguiente, en el aumento de la morbi-mortalidad postnatal. Por este motivo, el objetivo principal del presente trabajo ha consistido en intentar acercarnos a los problemas metabólicos que se presentan cuando el feto, aún inmaduro, es expuesto a los rigores fisicoquímicos de la vida extrauterina. En este sentido, los puntos principales que hemos abordado en nuestro estudio son los siguientes:

1.- Estudio bioquímico del desarrollo de los principales tejidos fetales durante el último período de la gestación, con objeto de conocer en qué punto se interrumpe el desarrollo tisular del feto como consecuencia de la aparición prematura del parto.

2.- Estudio detallado de los principales hándicaps metabólicos que presenta el neonato prematuro, con especial atención de aquellos que pueden aumentar su vulnerabilidad bioquímica.

3.- Comprobación a nivel molecular de aquellos tratamientos que, de manera habitual, o aún en fase experimental, se llevan a cabo en clínica para paliar los handicaps metabólicos del neonato prematuro. Nos referimos al tratamiento materno con corticoides, o a la muy interesante posibilidad del tratamiento del recién nacido prematuro con indometacina o derivados salicílicos .

El desarrollo de este estudio, orientado hacia los objetivos que acabamos de mencionar, ha dado como resultado el trabajo que presentamos y que, en líneas generales, ha conseguido aportar datos suficientes para aclarar algunos de los aspectos más importantes de la vulnerabilidad bioquímica del neonato prematuro.

En este sentido, hemos estudiado la evolución del desarrollo tisular del feto mediante el seguimiento de la lipogénesis "de novo", proceso que por su ubicua incidencia en la síntesis de las estructuras tisulares, parece constituir el mejor reflejo bioquímico de la evolución de los tejidos durante el desarrollo ontogénico. Por otro lado, la utilización de un sustrato lipogénico tan poco distorsionante como es el agua tritiada, nos ha permitido cuantificar la lipogénesis en circunstancias estrictamente fisiológicas. Es más, este método nos ha permitido evaluar, asimismo, los cambios metabólicos que tienen lugar en la madre como consecuencia de su adaptación a las visicitudes bioquímicas del "conceptus". Por otro lado, hemos logrado el seguimiento, minuto a minuto, de los cambios metabólicos que ocurren inmediatamente tras el nacimiento, y de cuya disfunción resulta la morbi-mortalidad del recién nacido prematuro. Así, hemos estudiado la velocidad y regulación de la glucogenolisis postnatal, principal suministradora de la glucosa necesaria para la supervivencia de los tejidos neonatales, la evolución de la lactiacidemia postnatal, muy elevada en el neonato prematuro, el destino del lactato plasmático y su extraordinaria importancia como sustrato energético y plástico del cerebro en estas circunstancias, la evolución postnatal de las concentraciones de los gases sanguíneos, como indicadores de los cambios fisiológicos y bioquímicos que tienen lugar en la respiración neonatal, etc.

Dentro del tercer objetivo antes mencionado, hemos demostrado cómo el tratamiento materno con glucocorticoides consigue la remisión total de la hipoxia postnatal del neonato prematuro, restableciendo casi totálmente las condiciones que se observan en el recién nacido a término. Hemos querido investigar, asimismo, si el

efecto benefactor de los corticoides incidía principalmente en el desarrollo pulmonar y, muy especialmente, en el del surfactante que recubre la membrana luminal del alveolo o, alternativamente, en el adelantamiento de la oclusión postnatal del ductus arterioso favoreciendo, por consiguiente, la circulación pulmonar. En este sentido y para intentar acercarnos al conocimiento de las posibles consecuencias metabólicas que supondría el retraso en la oclusión del ductus arterioso (hecho que se ha postulado como posible hándicap del neonato prematuro), hemos investigado los efectos metabólicos que trae consigo el retraso en la obliteración del cordón umbilical. De hecho, las señales que ponen en funcionamiento la oclusión del ductus arterioso y del foramen oval están dirigidas cronológicamente por la obliteración del cordón umbilical. Un retraso, pues, en la obliteración de este conducto, conduce al síndrome conocido como "ductus arterioso patente". Gracias a este modelo hemos podido demostrar que la hipoxia sufrida por el neonato prematuro inmediatamente tras el nacimiento es, posiblemente, debida a la inmadurez del surfactante pulmonar y no a un supuesto retraso en la oclusión del ductus arterioso.

Por consiguiente, nuestros resultados muestran como principal handicap del neonato prematuro, las bajas oxemias postnatales observadas durante el período neonatal temprano. Como hemos mencionado antes, la hipoxia resultante es debida a la defectuosa adquisición del oxígeno a nivel pulmonar, como consecuencia de la disfuncionalidad del surfactante. Pues bien, la hipoxia conduce al mantenimiento de la hiperlactiacidemia postnatal como resultado de la inhibición de la utilización del lactato, producida por la paralización del metabolismo oxidativo. Este hecho es mucho más importante de lo que parece a primera vista, pues no sólo obliga al mantenimiento de la acidosis láctica durante un largo período, sino que, más decisivamente, priva al cerebro neonatal de su principal y casi exclusivo sustrato durante este período, es decir, el lactato. En efecto, como se pone de manifiesto en el presente trabajo, el lactato es el principal sustrato metabólico para el cerebro neonatal que, gracias a él, continúa su desarrollo a pesar de la precaria situación energética existente durante este período. Es más, gran parte del lactato utilizado por el cerebro durante el período postnatal temprano se incorpora a los fosfolípidos cerebrales, tomando parte, por consiguiente, en la construcción de las delicadas estructuras de este tejido. A la vista de estos resultados, no resulta inesperado que la prematuridad incida tan decisivamente en la disfuncionalidad cerebral. La extrapolación de estos resultados al recién nacido humano, permite sugerir, por primera vez, la existencia de un mecanismo molecular que explica la conexión largamente observada entre la prematuridad y el daño cerebral.

Es obvio que los resultados antes mencionados no han podido obtenerse en la especie humana, dadas las limitaciones éticas y metodológicas inherentes a todo trabajo clínico. Por consiguiente, debimos elegir en su día un animal de laboratorio que pudiera servir de modelo para el ensayo de las hipótesis planteadas, como consecuencia del estudio de los resultados empíricos obtenidos en la clínica. Sin

embargo, la elección del modelo adecuado no resulta, en nuestro caso, un trabajo sencillo. En este sentido, es evidente que, incluso dentro de los propios mamíferos, las especies presentan notables diferencias en los mecanismos metabólicos más generales. Estas diferencias son aún más notables en lo que se refiere al control endocrino del metabolismo, resultando en soluciones diversas para un mismo problema. Sin embargo, en el metabolismo perinatal estas diferencias suelen ser más acusadas. Así, por un lado hay que tener en cuenta las posibles diferencias cuantitativas con respecto a los parámetros bioquímicos fundamentales. Aún más importante, tenemos que tener en cuenta que durante el período perinatal, puedan existir diferencias cualitativas con respecto al momento de inicio y decaimiento de los procesos, magnitud e importancia de éstos, etc. Por consiguiente, si se quiere utilizar un animal de experimentación para el estudio de la bioquímica perinatal, no basta buscar una especie cuya similitud metabólica sea suficiente, sino aquella cuyo desarrollo tisular coincida con el observado en el feto y recién nacido humano.

Afortunadamente, el estudio del metabolismo perinatal de la rata permite un acercamiento sustancial a la situación metabólica que, presumiblemente, existe en la especie humana durante la transición a la vida extrauterina. En efecto, no sólo las concentraciones de los principales metabolitos y su evolución perinatal parecen idénticas, sino que el desarrollo de sus tejidos y, muy especialmente el del cerebro, coincide aproximadamente en el tiempo con el de la especie humana. Así, otras especies metabólicamente más cercanas al hombre difieren en su desarrollo perinatal, lo que las descarta como modelo para el estudio del metabolismo perinatal humano. Es más, la rata tiene la ventaja adicional de ser una de las especies mejor conocidas desde el punto de vista metabólico, lo que nos permite partir con ventaja a la hora de conocer las similitudes y coincidencias entre el metabolismo perinatal y el del aduto.

Sin embargo, como es lógico, existen diferencias entre el metabolismo del neonato de rata y el recién nacido humano. En efecto, la rata carece de tejido adiposo blanco en el momento del nacimiento, mientras que el recién nacido humano a término tiene una considerable cantidad de este tejido (equivalente a, aproximadamente, el 15% del peso total). Por consiguiente, el recién nacido humano dispone de reservas lipídicas en el momento del nacimiento, mientras que la rata sólo posee carbohidratos, especialmente en forma de glucógeno. De esta manera, el neonato de rata tiene que esperar a los ácidos grasos lácteos para cubrir la mayor parte de sus necesidades energéticas básicas. Sin embargo, estas diferencias no son importantes para el estudio de la vida neonatal temprana. De hecho, el recién nacido humano sufre un considerable retraso en la liberación postnatal de las reservas grasas almacenadas en el tejido adiposo blanco, a lo que se suma la inhibición transitoria en la cetogénesis por déficit de carnitina. Por este motivo, hasta que la leche materna suministre la carnitina necesaria, los ácidos grasos, aunque presentes, no podrán ser transformados en cuerpos cetónicos. En otras palabras,

aunque el recién nacido humano no tiene que esperar el suministro de ácidos grasos exógenos, se ve necesariamente obligado a retrasar su utilización hasta la llegada de los cofactores necesarios contenidos en la leche materna. En resumen, la rata es un excelente modelo metabólico para el estudio de la situación perinatal humana poseyendo, incluso, una regulación neuroendocrina similar en líneas generales a la de la especie humana.

Es evidente, sin embargo, que la duración de los períodos perinatales es mucho más corta en la rata que en la especie humana. Sin embargo, existe un asombroso paralelismo entre ambas especies por lo que se refiere a la duración de cada una de las etapas que constituyen el período perinatal. En este sentido, dentro del período perinatal existen tres etapas bien definidas, que se conocen con los nombres de gestación, lactancia y destete (Fig. 1). Las dos primeras tienen como solución de continuidad el parto, mientras que la tercera constituye la transición desde la lactancia a la dieta sólida característica de la vida adulta. Sin embargo, dentro de estos períodos más generales debemos distinguir, a su vez, etapas más singulares que denominaremos como preparto y prelactancia. La primera transcurre durante las 4 últimas semanas de gestación en la especie humana (3 últimos días en la rata) y, como su nombre sugiere, constituye la preparación para el parto. Por su lado, el término prelactancia define el período de tiempo transcurrido entre el parto y el comienzo de la lactancia. La prelactancia es de corta duración, siendo en el recién nacido humano de 12-24 horas según los hábitos sociales, (2-3 horas en el caso de la rata).

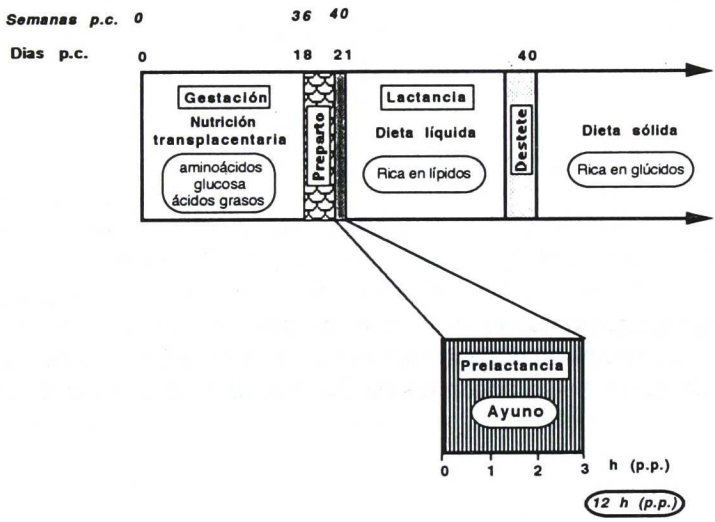


Figura 1.- Períodos perinatales en la rata. En recuadro duración en la especie humana

CAPITULO I

BASES MOLECULARES DE LA PREMATURIDAD

Si difícil es definir la prematuridad desde el punto de vista clínico, resulta aún más arriesgado intentar determinar en qué punto del desarrollo ontogénico el feto está bioquímicamente preparado para afrontar, con probabilidades de éxito, la vida extrauterina. Para acercarnos a esta difícil definición, tendríamos que establecer una jerarquía tisular que nos orientara acerca de aquellos tejidos que deben poseer en el momento del nacimiento un grado de madurez mínima, que confiera al neonato la viabilidad deseable. Por otro lado, tendríamos que jerarquizar, a su vez, los procesos bioquímicos que tienen lugar en el interior de los tejidos seleccionados, con objeto de determinar aquellas funciones verdaderamente decisorias de la supervivencia del tejido y, por ende, de la del recién nacido.

En este sentido, uno de los objetivos del presente trabajo ha consistido en intentar encontrar parámetros bioquímicos que pudieran indicarnos en cada momento el grado de desarrollo de los tejidos fetales, con objeto de acercarnos a conocer aquellos puntos más vulnerables del metabolismo fetal, supuestamente responsables de la morbi-mortalidad postnatal del neonato prematuro. Evidentemente, ésta no es una tarea fácil, pero que debe ser abordada si queremos intentar conocer las causas profundas de la vulnerabilidad del recién nacido prematuro. En definitiva, si queremos acercarnos a lo que podemos denominar como: "etiología molecular de la prematuridad".

Como parámetros del desarrollo bioquímico de los tejidos fetales hemos utilizado la velocidad de la lipogénesis, es decir, de la síntesis "de novo" de lípidos. En efecto, es bien conocido que la totalidad de las células requieren sustancias lipídicas, no sólo como fuente de energía, sino también como elementos plásticos imprescindibles para la construcción de todas y cada una de sus estructuras celulares. Pensamos, pues, que la actividad lipogénica podría ser un buen índice del

avance de la maduración de los tejidos fetales. Sin embargo, necesitábamos buscar un sustrato lipogénico que por sus características químicas no perturbara en absoluto el metabolismo normal de los tejidos fetales. Elegimos, por consiguiente, el agua tritiada, sustancia que aporta hidrógenos para la síntesis de los ácidos grasos y que, incorporados en sus esqueletos carbonados, permanecen en ellos durante el tiempo suficiente como para que puedan ser detectados radioquímicamente. Asimismo, el agua tritiada tiene la ventaja adicional de distribuirse perfectamente en todos los tejidos. Es más, pasa libremente la barrera placentaria, lo que permite su distribución uniforme en los compartimentos materno y fetal. Si a estas ventajas añadimos que la distribución del agua entre los dos compartimentos es prácticamente inmediata, es fácil entender que nuestro método ofrece la posibilidad única de medir la lipogénesis materna y fetal sincrónicamente. En resumen, puesto que el agua constituye un elemento sobradamente vinculado a la vida celular, el sustrato lipogénico utilizado no interfiere con el metabolismo endógeno, y su distribución es tan extraordinariamente corta en el tiempo, que permite la medida de la lipogénesis sin interferencias ni asincronías.

Por consiguiente, uno de nuestros principales objetivos ha consistido en el estudio del desarrollo fetal durante el último período de la gestación, con objeto de aproximarnos al conocimiento de aquellos procesos bioquímicos que, interrumpidos por el parto prematuro, son los causantes de la inmadurez metabólica postnatal y, posiblemente, de la morbi-mortalidad del prematuro. En efecto, es evidente, que la defectuosa adaptación del neonato prematuro a la vida extrauterina, causante del aumento de la vulnerabilidad neonatal tiene una etiología molecular indudable, que aunque posiblemente diversa, responde a un patrón bioquímico caracterizable . Por esta razón, hemos considerado imprescindible estudiar aquellos aspectos bioquímicos del desarrollo fetal que pudieran servirnos de indicadores del grado de madurez tisular, a la vez que pudieran orientarnos acerca de la presumible vulnerabilidad postnatal.

1.-PREPARACION FETAL PREPARTUM

1.1.- Preparación tisular para la vida extrauterina

1.1.1.- Desarrollo pulmonar. Síntesis del surfactante.

Entre los tejidos que el feto va a necesitar con más urgencia en el momento del nacimiento se encuentra el pulmón, que tiene que hacerse cargo de la oxigenación de la sangre una vez que cesa el aporte transplacentario. Un elemento esencial en la correcta transferencia de oxígeno a nivel alveolar es el denominado "surfactante" que recubre la membrana luminal de los alveolos permitiendo la plasticidad necesaria durante la tensión y distensión pulmonares. El surfactante está constituído, principalmente, por fosfolípidos que colaboran decisivamente en la regulación de la tensión superficial del alveolo. En este sentido, la necesidad de la síntesis del surfactante en las proximidades del parto obliga al pulmón a comportarse de manera diferente a otros tejidos.

En este sentido, nuestro trabajo ha consistido en el estudio de la lipogénesis y glucogenosíntesis pulmonares (17, 19, 73), así como de la glucogenolisis pulmonar "prepartum" (72). Nuestros resultados indican que la síntesis de glucógeno pulmonar decrece muy significativamente durante los tres últimos días de la gestación, hasta ser casi imperceptible en las cercanías del parto (Fig. 2). La caída de la síntesis de glucógeno coincide con la inducción de la glucogenolisis, que acaba con las reservas de glucógeno pulmonar en las cercanías del parto (Fig. 3). Este hecho es concordante con la hipótesis de que el glucógeno pulmonar es el precursor de los fosfolípidos del surfactante. En efecto, durante este período, la lipogénesis "de novo" en pulmón es creciente, alcanzándose un máximo durante el último día de la gestación (Fig. 2). Estos resultados son verdaderamente importantes si se piensa que nuestro diseño experimental permite medir, sin interferencias exógenas, la lipogénesis y la glucogenosíntesis a partir del mismo precursor marcado, lo que aumenta muy considerablemente el significado de los resultados.

En efecto, la medida de la concentración del surfactante pulmonar en estas circunstancias (Fig. 4) revela que su acúmulo es paralelo a la lipogénesis total (Fig. 2). Por otro lado, el procesamiento de estos datos mediante un computador, permite asegurar que el prematuro de rata presenta en el momento del nacimiento menores concentraciones de surfactante lo que, previsiblemente, disminuye la plasticidad de la membrana alveolar del prematuro (37).

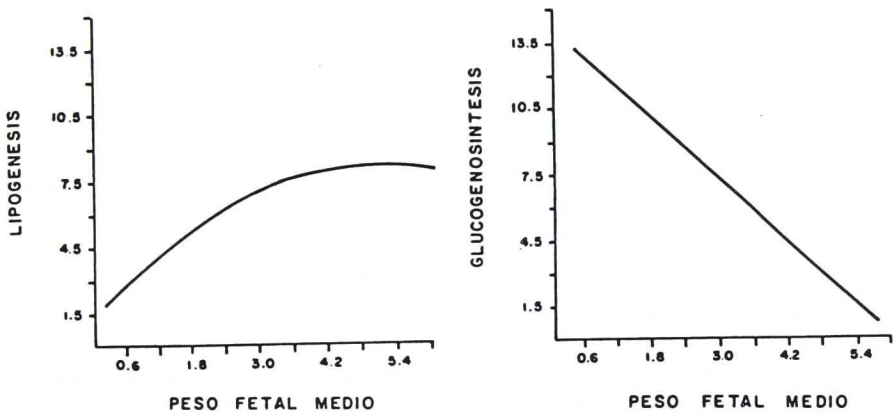


Figura 2.- Lipogénesis "*de novo*" y síntesis de glucógeno en pulmón de feto de rata durante el último período de la gestación. Equivalencia aproximadas entre el peso fetal medio y edad gestacional: 17.5 d: 0.7 g; 18.5 d: 1.5 g; 19.5 d: 3.5 g; 21.5 d (termino): 5.4 g. Ajuste realizado por computador.

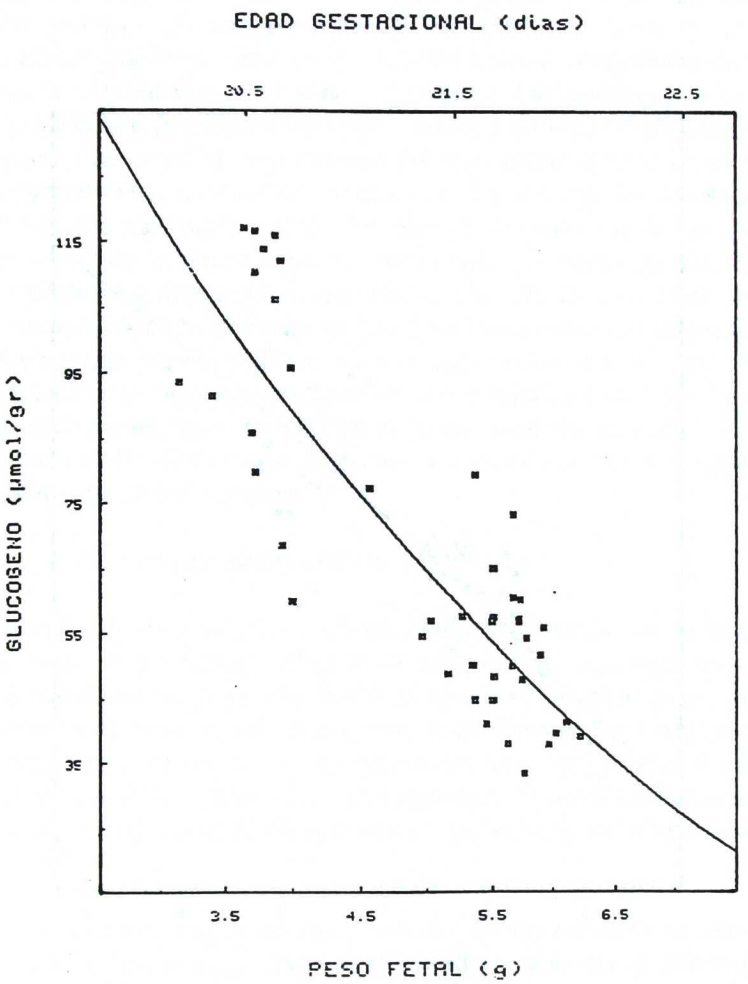


Figura 3.- Ajuste realizado por computador de las concentraciones de glucógeno pulmonar fetal durante los últimos días de la gestación de la rata.

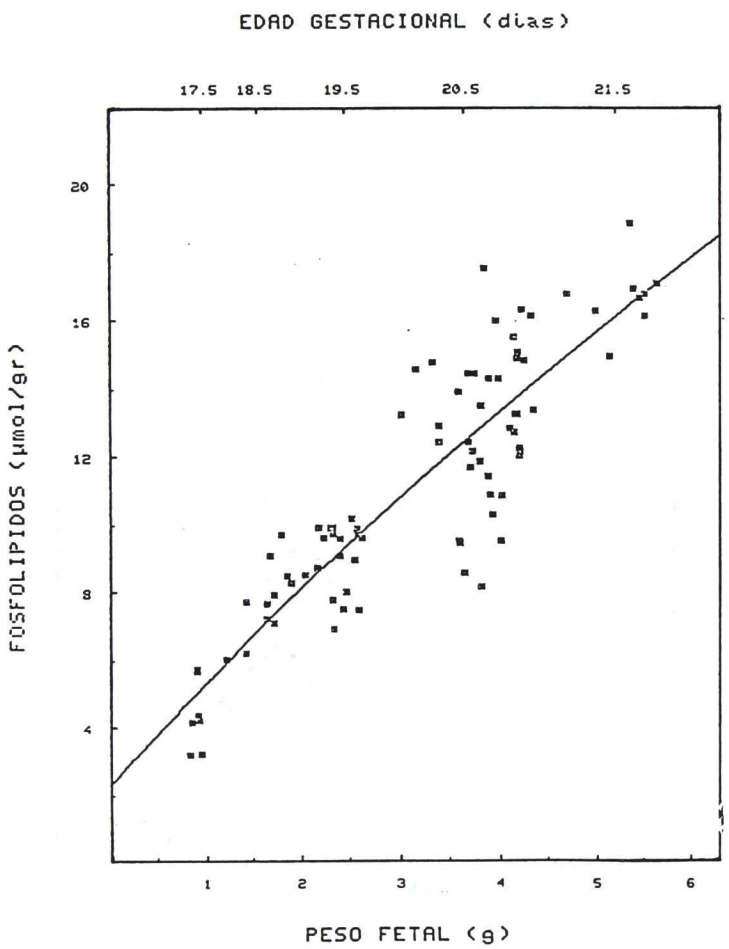


Figura 4.- Ajuste realizado por computador de las concentraciones de fosfolípidos del surfante pulmonar fetal durante los últimos días de la gestación en la rata.

En resumen, la lipogénesis "de novo" en pulmón continúa alta y estable durante los últimos días de la gestación, permitiendo la síntesis de fosfolípidos, componentes esenciales del surfactante. Por otro lado, llama poderosamente la atención que el comportamiento del metabolismo del glucógeno en pulmón es diametralmente opuesto al hepático (ver más adelante). En efecto, el glucógeno se acumula en pulmón en un período de la gestación anterior al inicio de la glucogenosíntesis hepática, alcanzando sus máximos precisamente cuando empieza a detectarse la síntesis de glucógeno en hígado. Sin embargo, este hecho no es accidental, puesto que precisamente ahora, cuando se inicia la síntesis de glucógeno en otros tejidos, comienza la degradación del glucógeno pulmonar. La razón de este extraño comportamiento es sencilla: el glucógeno pulmonar es el principal precursor de los fosfolípidos del surfactante. En efecto, cuando comienza la síntesis de fosfolípidos se inicia la glucogenolisis pulmonar. De esta manera, se asegura la síntesis de fosfolípidos pulmonares, durante un período en que las prioridades fetales obligan al encauzamiento de toda la glucosa disponible hacia la síntesis de las reservas energéticas imprescindibles para la supervivencia postnatal. Gracias a esta refinada regulación, el neonato poseerá en el momento del nacimiento las delicadas estructuras alveolares que al permitirle una correcta adquisición de oxígeno, aumentarán el rendimiento de la maquinaria metabólica como consecuencia de la utilización de los procesos aerobios (7).

1.1.2.- Lipogénesis cerebral "prepartum"

La fiabilidad de nuestro método para la medida de la velocidad de la lipogénesis, nos ha permitido aplicarlo al estudio de la lipogénesis cerebral. En efecto, la lipogénesis es muy activa en el cerebro durante el período perinatal, especialmente en la especie estudiada que, a semejanza del hombre, presenta una profunda inmadurez cerebral en el momento del nacimiento. En este sentido, nuestros resultados (21) indican que la lipogénesis cerebral es sustancial durante el último período de la gestación, no sufriendo cambios significativos en las cercanías del parto (Fig. 5).

Estos resultados sugieren que la síntesis de las estructuras cerebrales es tan importante, que la lipogénesis en cerebro prosigue durante el último período de la gestación, a pesar de que las prioridades energéticas apuntan hacia el acúmulo de reservas tanto glucídicas como lipídicas (ver más adelante).

1.2.- Prioridades energéticas y encauzamiento de los sustratos

La unidad materno-fetal muestra una sucesión de prioridades conforme avanza el crecimiento del "conceptus". Así, durante la primera mitad de la gestación la madre utiliza el exceso calórico de su ingesta para acumular reservas en su propio

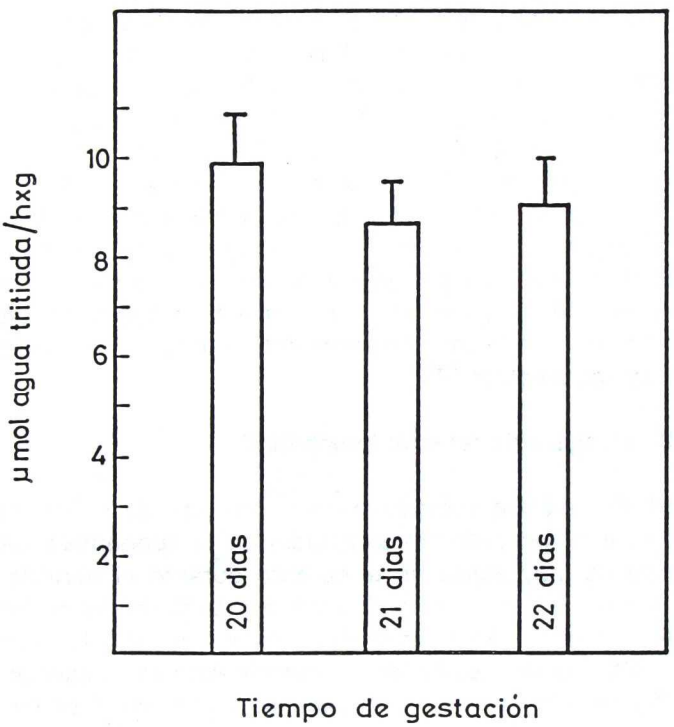


Figura 5.- Lipogénesis "*de novo*" en cerebro fetal durante el último período de la gestación.

tejido adiposo, con objeto de afrontar con éxito las futuras demandas del crecimiento fetal. Sin embargo, durante el segundo período de la gestación las prioridades se establecen cara al feto, permitiendo el suministro de sustratos de acuerdo con las necesidades fetales (ver más adelante). Sin embargo, dentro del propio feto se establecen, a su vez, prioridades dependiendo de la importancia y oportunidad de los procesos. La lipogénesis "de novo" en los tejidos fetales es un buen ejemplo de ello.

En este sentido, nuestros resultados (10, 17, 19) indican que existe una drástica disminución de la velocidad lipogénica en hígado fetal conforme se acerca el parto (Fig. 6). Este hecho sugiere que el hígado se prepara para el parto puesto que, inmediatamente tras él, la lipogénesis será insignificante dado que los lípidos se aportan ya sintetizados en la leche materna. Sin embargo, como hemos visto antes, la lipogénesis pulmonar crece durante este tiempo (Fig. 2 y 4), lo que parece indicar que la importancia funcional de los fosfolípidos pulmonares obliga a continuar su síntesis hasta el momento del parto. Es más, la disminución de la lipogénesis hepática puede estar condicionada por el hecho de reservar los sustratos lipogénicos para el desarrollo pulmonar.

Por consiguiente, podemos afirmar que la lipogénesis "de novo" está destinada principalmente a la síntesis de estructuras celulares, siendo muy activa en hígado durante el último período de la gestación, pero disminuyendo drásticamente en las cercanías del parto. Esta disminución de la lipogénesis hepática fetal está posiblemente condicionada por el encauzamiento de la glucosa hacia la síntesis de glucógeno, muy activa en estas circunstancias (Fig. 6). Sin embargo, la disminución de la lipogénesis hepática no se corresponde con la de la lipogénesis en otros tejidos donde, como hemos visto anteriormente, no existen variaciones durante los tres últimos días (en cerebro; ref. 21) o aumenta muy significativamente (como en el pulmón: refs. 17, 19 y 73). Es necesario destacar el hecho de que el ayuno de la madre hace caer drásticamente la lipogénesis fetal en hígado y pulmón, sin afectar a la lipogénesis en cerebro (21). Este hecho indica la existencia de una prioridad manifiesta en el desarrollo del cerebro fetal, preservándolo de las posibles influencias exógenas (ver más adelante).

1.3.- Preparación de la maquinaria metabólica para la vida extrauterina

Durante el período de preparto, el feto acomoda la dotación enzimática de sus tejidos a los procesos metabólicos que van a ser de inmediata utilización postnatal. Junto con los procesos metabólicos más generales, como el de la glucogenolisis, lipolisis, etc., el feto se prepara teleonómicamente para otros procesos más específicos de la vida neonatal. El ejemplo más notable de estos últimos es el de la cetogénesis, cuyas enzimas se inducen durante los últimos momentos de la vida

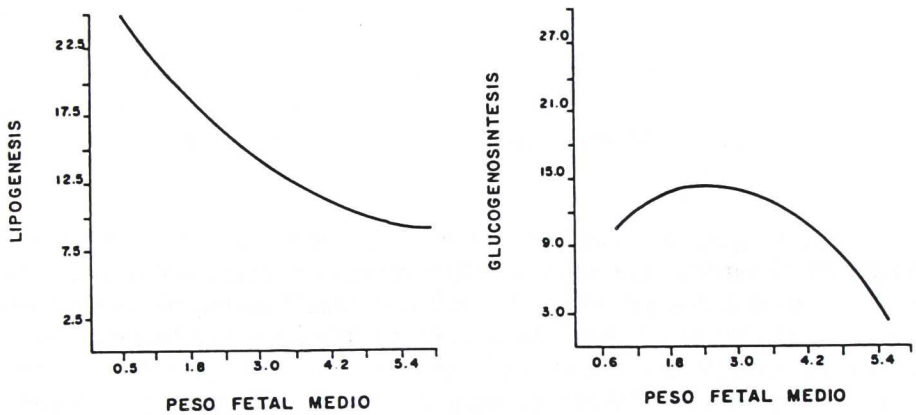


Figura 6.- Lipogénesis "*de novo*" y síntesis de glucógeno en hígado de feto de rata durante el último período de la gestación. Equivalencias aproximadas entre peso fetal medio y edad gestacional: 17.5: 0.7 g; 18.5 d: 1.5 g; 19.5: 2.0 g; 20.5 d: 3.5 g; 21.5 d (termino): 5.4 g. Ajuste realizado por computador.

fetal, con objeto de preparar al neonato para la síntesis de cuerpos cetónicos que, como veremos, serán la principal fuente de energía del cerebro durante la lactancia (ver más adelante).

En este sentido, en el curso de nuestra investigación se hizo evidente que el consumo del lactato constituye un hecho fundamental en la supervivencia del recién nacido. En efecto, dado que el consumo de lactato durante el período postnatal está directamente relacionado con las concentraciones de oxígeno en sangre (9), consideramos necesario investigar los cambios ocurridos en la proporción de las isoenzimas de la lactato deshidrogenasa (LDH) hepática durante el período fetal, con objeto de dilucidar la dotación de isoenzimas de la lactato deshidrogenasa existente en el hígado fetal en el momento del nacimiento. Asimismo, gracias a la computerización de los resultados, se ha podido relacionar la proporción de las isoenzimas de la lactato deshidrogenasa con las concentraciones de oxígeno en sangre fetal (Fig. 7). En este sentido, nuestros resultados indican (22) un aumento de la proporción de la LDH-4 hasta alcanzar un máximo en el día 21 de gestación, disminuyendo después, en las cercanías del parto. El comportamiento de la isoenzima LDH-5 en estas circunstancias es el inverso, demostrándose que ambas isoenzimas guardan relación con las concentraciones de oxígeno en sangre fetal (Fig. 8). Por consiguiente, podemos concluir que el oxígeno induce la síntesis de las isoenzimas de la lactato deshidrogenasa más adecuadas para el consumo de lactato, disminuyendo las responsables de su síntesis.

Por otro lado, estos resultados son la primera prueba realizada "in vivo" que afirma, sin lugar a dudas, la hipótesis de Kaplan sobre la regulación de las isoenzimas de la lactato deshidrogenasa por la concentración tisular de oxígeno. La hipótesis prevé la existencia de una lactato deshidrogenasa específica de cada tejido, de acuerdo con las dispohibilidades de oxígeno del propio tejido. Nuestros resultados no sólo afirman esta sugerencia sino que, además, demuestran que la concentración de las isoenzimas cambia directa o inversamente en relación con la cantidad de oxígeno disponible.

1.4.- Acúmulo de reservas energéticas

Durante el último período de la gestación (último 10% en la mayoría de las especies) todos los tejidos fetales acumulan una considerable cantidad de glucógeno. Así, no sólo acumulan glucógeno aquellos tejidos que durante la vida adulta poseen un metabolismo del glucógeno muy activo, tales como el músculo y el hígado, sino incluso lo hacen tejidos tan transitorios como la placenta. Sin embargo, las dos principales reservas de glucógeno a tener en cuenta son las del músculo y las del hígado. En este sentido, las reservas del glucógeno muscular en el momento del nacimiento son similares (en la rata) o muy superiores (3 veces en el caso del

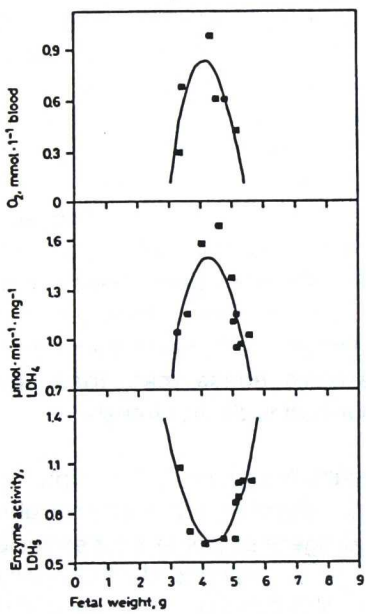


Figura 7.- Concentraciones de oxígeno en sangre y principales isoenzimas de la lactato deshidrogenasa hepática en feto de rata durante los últimos días de la gestación. Para la correspondencia entre el peso fetal y la edad gestacional véase Fig. 2.

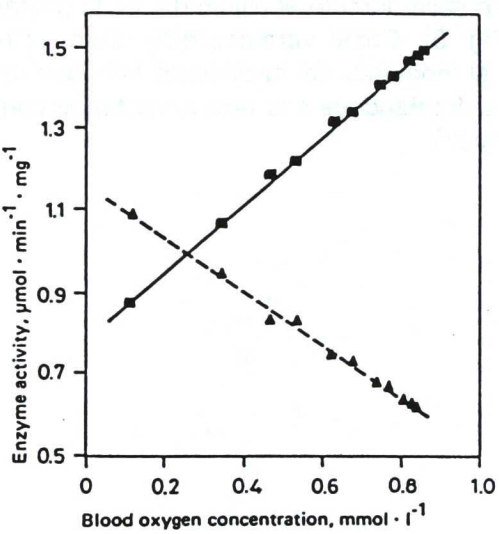


Figura 8.- Correlación lineal entre las concentraciones de oxígeno en sangre e isoenzimas de la lactato deshidrogenasa hepática durante los dos últimos días de la gestación (ver figura anterior).

hombre) a las existentes en el adulto. Más notable es el caso del corazón de feto humano, que posee 10 veces mas glucógeno que el del adulto.

Mucho más importante desde el punto de vista metabólico es el acúmulo de glucógeno en hígado, pues al contrario del acumulado en músculo, que sólo puede ser utilizado "in situ", el glucógeno hepático está destinado a suministrar glucosa a todos los tejidos a través del torrente circulatorio. El glucógeno se acumula en hígado fetal de rata durante el último período de la gestación (Figura 9), hasta alcanzar concentraciones dobles a las observadas en hígado de adulto alimentado. Estas altísimas concentraciones de glucógeno se mantienen a pesar de la caída de la velocidad glucogenosintética durante el último día de la gestación (3.5 - 5.4 gramos de peso fetal en la Fig. 5). Como veremos más tarde, el neonato prematuro no consigue alcanzar en el momento del nacimiento más que un 40% de las reservas totales de glucógeno, enfrentándose a la vida extrauterina con escasísimas reservas energéticas (ver capítulo III).

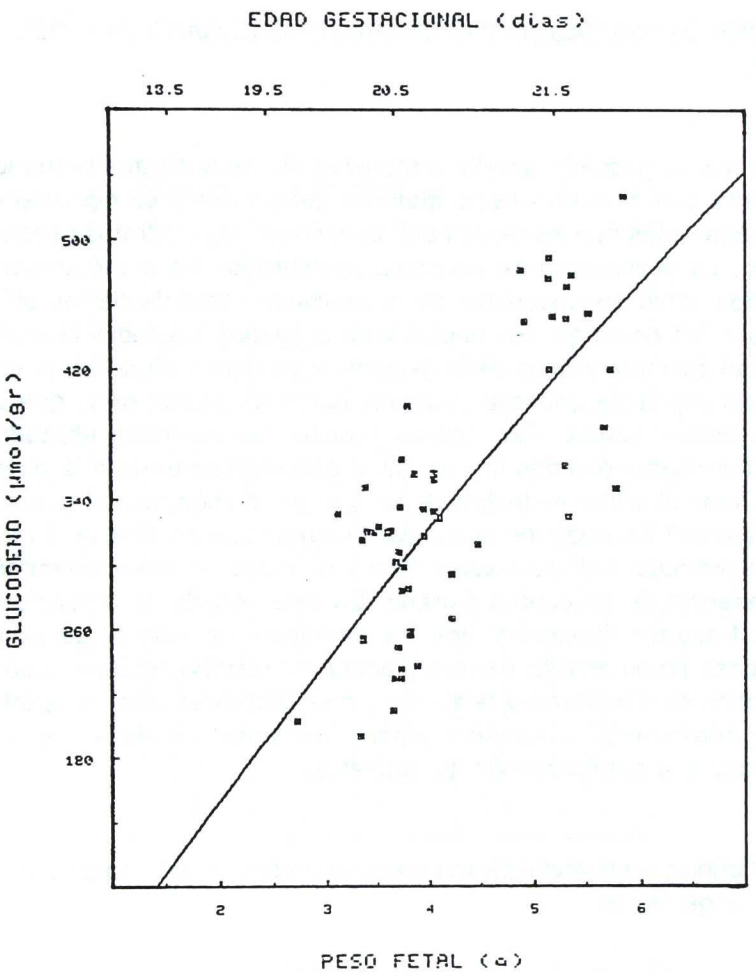


Figura 9.- Concentraciones de glucógeno en hígado de feto de rata durante el último período de la gestación. Ajuste realizado por computador (Arizmendi, C. y Medina, J. M., resultados no publicados).

2.- ADAPTACION DEL METABOLISMO MATERNO AL DESARROLLO DEL CONCEPTUS.

Puesto que la gestante aporta la totalidad de los sustratos requeridos por el feto, es evidente que el metabolismo materno debe adaptarse considerablemente para poder aportar a los nuevos tejidos del "conceptus" los sustratos necesarios para su crecimiento. La descripción de los cambios ocurridos en el metabolismo de los tejidos maternos como consecuencia de la gestación, se sale de los objetivos del presente trabajo. Sin embargo, nos hemos visto obligados a estudiar ciertos aspectos de la adaptación del metabolismo de la gestante a su nueva situación, pues sin estos datos, resultaría imposible enunciar cualquier hipótesis acerca de lo que pensamos ocurre en los tejidos fetales. Así, ¿cómo conocer los sustratos utilizados por los tejidos fetales si desconocemos la cuantía y oportunidad en que la madre puede aportarlos? ¿Cómo dilucidar el destino de un sustrato común, con el que competirían los tejidos maternos? Es evidente, pues, que tenemos que considerar el metabolismo materno como promotor del crecimiento fetal y no como un mero acompañante que soporta la presencia de un cuerpo extraño. En este sentido, la utilización del agua tritiada como trazador lipogénico nos ha permitido, no sólo la utilización de un sustrato que pasa libremente la barrera placentaria distribuyéndose uniformemente en los compartimentos materno y fetal, sino, muy decisivamente, la oportunidad de medir la lipogénesis fetal y materna sincrónicamente, es decir, sin retrasos o desfases debidos a la distribución de los sustratos.

2.1.- Cambios en el metabolismo materno durante el último período de la gestación

2.1.1.- Adaptación de la lipogénesis "de novo" de los tejidos maternos al desarrollo del "conceptus"

La lipogénesis hepática materna decrece durante los últimos días de la gestación (10), incluso por debajo de los niveles observados en ratas no gestantes (Fig. 10). Estos resultados indican que el hígado materno restringe sus necesidades de glucosa para aportar al feto toda la glucosa disponible.

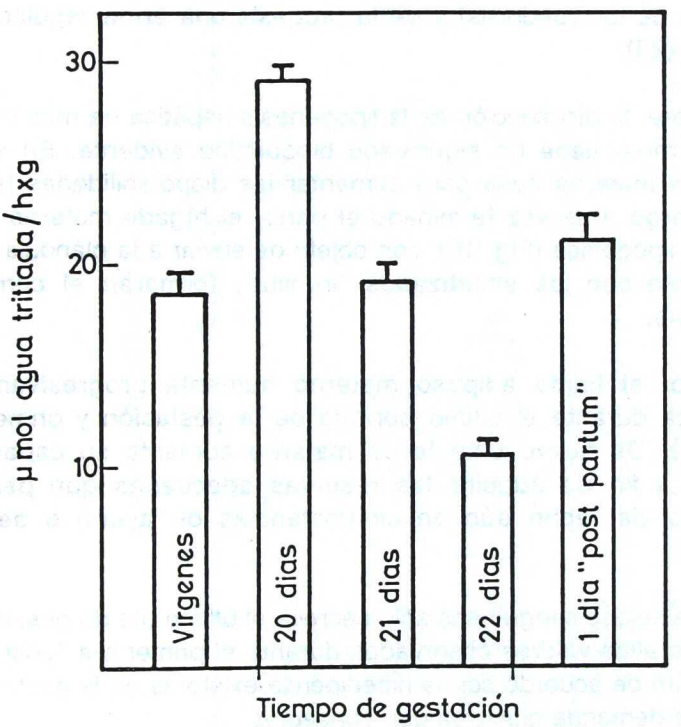


Figura 10.- Lipogénesis "de novo" en hígado de rata gestante durante el período perinatal.

La disminución de la lipogénesis hepática materna coincide con la caída de los niveles plasmáticos de insulina (Tabla I; ref. 10). Este hecho está a favor de la hipótesis de que la lipogénesis hepática se regula durante la gestación por los niveles de insulina circulante. Sin embargo, nuestros resultados sugieren (10, 19, 21) que existen otros factores hormonales que juegan un papel importante en la regulación de la lipogénesis hepática en estas circunstancias. De hecho, la prolactina aumenta durante el último período de la gestación (Tabla II), lo que sugiere que esta hormona juega un papel importante en la regulación de la lipogénesis hepática materna. Tampoco se descarta la contribución del 17-beta-estradiol (principal estrógeno de los roedores) y de la progesterona en la regulación de la lipogénesis materna (20).

Sea como fuere, la disminución de la lipogénesis hepática -la más importante de los tejidos maternos- tiene un significado bioquímico evidente. En efecto, la lipogénesis hepática materna cesa para aumentar las disponibilidades fetales de sustratos. Sin embargo, una vez terminado el parto, el hígado materno eleva de nuevo su capacidad lipogénica (Fig. 10), con objeto de enviar a la glándula mamaria los lípidos que, junto con los sintetizados "in situ", formarán el componente mayoritario de la leche.

Sin embargo, el tejido adiposo materno aumenta progresivamente su capacidad lipogénica durante el último período de la gestación y primer día de puerperio (Fig. 11). De nuevo este tejido materno aumenta su capacidad de almacenar lípidos, a fin de adquirir las reservas adecuadas que permitan el suministro continuo de leche aún en circunstancias de ayuno o de ingesta restringida.

La síntesis de lípidos sanguíneos sólo decrece el último día de gestación (Fig. 12), recuperando los altos valores observados durante el primer día "post partum". Estos resultados están de acuerdo con la hiperlipemia existente en la gestante como resultado de la fuerte demanda glucídica del "conceptus".

2.1.2.- Inducción de la cetogénesis en la gestante

Durante el último período de la gestación aumentan los ácidos grasos circulantes en la sangre de la gestante (Tabla I), con objeto de suministrar a los tejidos maternos la energía necesaria que permita suplir el déficit producido por la fuerte demanda fetal. Sin embargo, el aumento de la concentración de ácidos grasos no se acompaña, al contrario de lo esperado, de un aumento paralelo de la concentración plasmática de cuerpos cetónicos. Este hecho podría ser explicado por la anómala inhibición de la cetogénesis o, alternativamente, por un consumo exarcerbado de cuerpos cetónicos por los tejidos maternos y/o fetales.

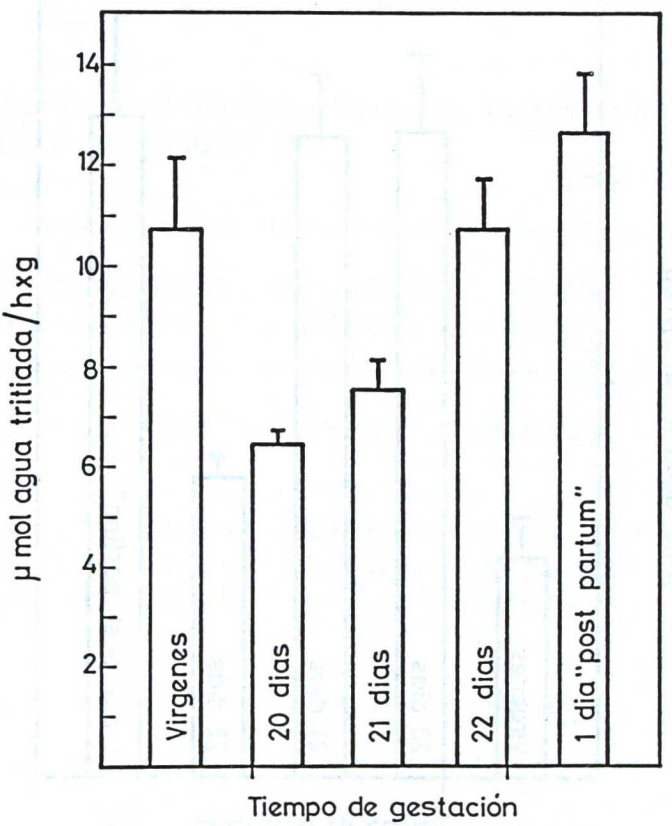


Figura 11.- Lipogénesis "de novo" en tejido adiposo de rata gestante durante el período perinatal.

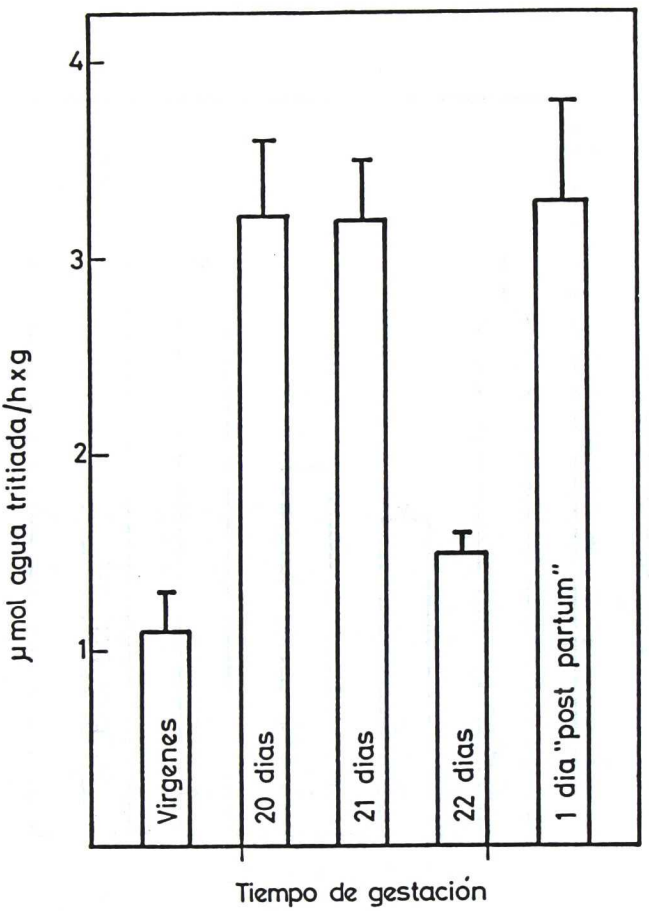


Figura 12.- Síntesis de lípidos plasmáticos en rata gestante durante el período perinatal.

Tabla I.- Concentraciones de metabolitos y hormonas en sangre materna durante el último período de la gestación (10).

	Glucosa (µmol/ml)	Acidos grasos (µmol/ml)	Triacilgliceroles (µmol/ml)	Insulina (µu/ml)	Progesterona (ng/ml)
Vírgenes	7.4 ± 0.2	0.27 ± 0.05	1.5 ± 0.1	25.6 ± 3.6	25.4 ± 4.1
Gestantes					
20 días	6.3 ± 0.3*	1.08 ± 0.07***	5.3 ± 0.4***	93.3 ± 14.0***	56.4 ± 7.4**
21 días	6.4 ± 0.1*	1.83 ± 0.33***	6.0 ± 0.2***	65.8 ± 16.5*	167.2 ± 35.9***
22 días	5.0 ± 0.2***	0.96 ± 0.06***	1.7 ± 0.1	37.0 ± 6.7	25.9 ± 2.5
1día "post partum"	6.9 ± 0.1	---	2.5 ± 0.3	26.6 ± 6.4	7.5 ± 1.0**

* $p < 0.05$; ** $p<0.01$; *** $P<0.001$

Tabla II.- Velocidad lipogénica hepática y concentraciones hormonales en gestantes durante el último período de la gestación (20).

	Lipogénesis (µmol/hxg)	Insulina (µu/ml)	17ß estradiol (pg/ml)	Progesterona (ng/ml)	Prolactina (ng/ml)
Vírgenes	17.0 ± 1.6	26 ± 4	---	25 ± 4	25 ± 8
Gestantes					
20 días	26.7 ± 1.7***	110 ± 11***	45 ± 8	56 ± 7**	30 ± 10
21 días	18.9 ± 0.8	73 ± 11***	52 ± 7	167 ± 35***	40 ± 10
22 días	13.6 ± 10***	27 ± 8	77 ± 10*	26 ± 3	92 ± 20**
1 día post partum"	22.5 ± 2.5*	27 ± 6	40 ± 5	7 ± 1**	28 ± 11

Los resultados son medias ± S.E.M. (n = 10-20); *p < 0.05; **p <0.01; ***p <0.001.

Para intentar solventar este dilema, decidimos investigar la capacidad cetogénica del hígado de la gestante en hepatocitos aislados. Nuestros resultados (8) indican que la capacidad cetogénica del hígado de la gestante está considerablemente aumentada durante el último período de la gestación. El aumento de la síntesis de cuerpos cetónicos es ostensible tanto si se utiliza oleato (Tabla III) u octanoato (Tabla IV) como sustrato cetogénico, lo que sugiere que la inducción de la cetogénesis en estas circunstancias no se debe a un aumento de la actividad de la palmitil-carnitina transferasa. Sea como fuere, nuestros resultados indican claramente que el hígado de la gestante produce más cuerpos cetónicos durante el último período de la gestación. Por consiguiente, la presencia de concentraciones normales de cuerpos cetónicos en sangre materna indica que los tejidos maternos y/o fetales consumen tal cantidad de cuerpos cetónicos, que la concentración plasmática permanece normal a pesar del fuerte aumento de la capacidad cetogénica del hígado de la gestante.

2.1.3.- Suministro de glucosa al feto Aumento de la gluconeogénesis materna

Durante el último día de la gestación, el feto de rata experimenta un incremento ponderal de, aproximadamente, un tercio de su peso. Este hecho es un índice del enorme esfuerzo materno por mantener un suministro constante y elevado de nutrientes al feto. A excepción de los esqueletos carbonados de los aminoácidos, el resto de los carbonos que constituyen la estructura fetal proceden de la glucosa que envía la madre vía transplacentaria. No es de extrañar, pues, que la gestante presente durante el último día de la gestación (32, 84) menores reservas de glucógeno, acompañadas de una clara hipoglucemia (Tabla V). Sin embargo, los sustratos gluconeogénicos más importantes, es decir, el lactato y la alanina, están elevadas en el plasma de la gestante durante este período (Tabla V). Por consiguiente, todos estos datos parecían sugerir que la gluconeogénesis materna podría estar muy aumentada, aunque las demandas fetales impedirían la recuperación de la glucemia materna.

En apoyo de esta hipótesis, nuestros resultados (32, 84) indican que las principales enzimas gluconeogénicas, tales como la fosfoenolpiruvato carboxicinasa y fructosa-1,6-bisfosfatasa, e incluso otras enzimas implicadas, tales como la lactato deshidrogenasa (Tabla VI), están muy aumentadas en el último día de la gestación. En el caso de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa, tanto la enzima de hígado como la de riñón aumentan muy considerablemente, lo que pone de.manifiesto que el proceso gluconeogénico en la rata gestante ha adquirido una magnitud extraordinaria sólo comparable al ayuno más prolongado.

Estos datos, si bien indicadores de la existencia de una activa gluconeogénesis en las gestantes, resultaban insuficientes sin la medida de la capacidad gluconeogénica real. Sin embargo, la medida de la gluconeogénesis "in

Tabla III.- Producción de cuerpos cetónicos a partir de oleato en hepatocitos aislados procedentes de ratas gestantes (8).

	Triglicéridos	Cuerpos cetónicos	CO_2
Vírgenes	12.7 ± 1.6	25.3 ± 2.5	0.8 ± 0.2
Gestantes			
20 días	8.4 ± 2.0*	53.0 ± 8.0	0.6 ± 0.2**
21 días	7.9 ± 1.7*	51.7 ± 7.0	0.6 ± 0.2*
22 días	7.2 ± 1.0*	42.4 ± 5.0*	1.1 ± 0.1

Los resultados son medias ± S.E.M. (n = 6-8); *p < 0.05.

Tabla IV.- Producción de cuerpos cetónicos a partir de octanoato en hepatocitos procedentes de ratas gestantes (8).

	Triglicéridos	Cuerpos cetónicos	CO_2
Vírgenes	1.7 ± 0.4	53.8 ± 7.0	3.9 ± 0.9
Gestantes			
20 días	0.9 ± 0.2	47.6 ± 5.0	1.6 ± 0.2**
21 días	1.1 ± 0.2	82.9 ± 9.5*	1.7 ± 0.5*
22 días	1.1 ± 0.2	94.7 ± 11.0**	3.0 ± 0.6

Los resultados son medias ± S.E.M. (n = 6-8). *p <0.5; **p <0.01.

Tabla V.- Concentraciones de metabolitos en gestantes a término (32).

	Plasma		Hígado	
	Glucosa (mM)	Lactato (mM)	Alanina (mM)	Glucógeno (µmol/g)
Vírgenes	5.6 ± 0.4	2.8 ± 0.3	0.38 ± 0.02	308 ± 31
Gestantes (22 d "post coitum")	4.4 ± 0.4*	4.1 ± 0.4**	0.52 ± 0.04*	162 ± 37**

Los resultados son medias + S.E.M. (n=4). *p <0.5; **p <0.01.

Tabla VI.- Actividad de enzimas gluconeogénicas en gestantes a término (32).

	Fosfoenolpiruvato Carboxicinasa (U/g)		Hígado F 1,6 bis Pasa (U/g)	Hígado Lactato dehidrogenasa (U/g)
	Hígado	Riñón		
Vírgenes	0.5 ± 0.1	1.4 ± 0.1	3.5 ± 0.1	68.6 ± 5.8
Gestantes (12 d "post coitum")	1.1 ± 0.1**	3.3 ± 0.2++	4.2 ± 0.1*	126.2 ± 12.4+

Los resultados son medias ± S.E.M. (n=4). *p <0.025; **p <0.01; +p <0.0025; ++p <0.0005.

vivo" en un sistema como la gestante compuesta por, al menos, dos compartimentos, resultaba extremadamente delicado. En este sentido, junto a medidas muy cuidadosas, los resultados tuvieron que ser calculados mediante los métodos más fiables en cuanto a optimización de las medidas. Gracias a la utilización de estos métodos, podemos afirmar que nuestros resultados (32) demuestran que la gestante posee, durante el último período de la gestación, una capacidad gluconeogénica doble de la existente en la rata no gestante (Tabla VII) mostrando, incluso, un recambio de lactato casi cinco veces mayor.

De acuerdo con estos resultados, la madre suministra más de la mitad de la glucosa requerida por el feto, gracias a la inducción de la gluconeogénesis (32), mientras que la otra mitad restante podría ser aportada por la transferencia directa de la glucosa procedente de la ingesta.

2.2.- Suministro de sustratos al feto. Lipogénesis placentaria

Durante la gestación, el comportamiento metabólico del "conceptus" es de auténtico parasitismo. De hecho, el feto recibe de la madre el oxígeno y todos los sustratos necesarios para su desarrollo. Estos últimos son suministrados por la madre en la forma más elaborada posible, de manera que requieran una transformación mínima. Este hecho condiciona las características de los nutrientes restringiéndolos, principalmente, a glucosa y aminoácidos. En algunas especies, sin embargo, la oferta es ligeramente más variada, incluyéndose en ella a los ácidos grasos libres.

Es bien conocido que la transferencia de oxígeno a nivel placentario es discreta, manteniéndose muy bajos niveles de oxígeno en sangre fetal. Sin embargo, la alta afinidad de la hemoglobina fetal asegura el suministro de oxígeno a los tejidos fetales, lo que da origen a un alto recambio de oxígeno a pesar de las bajas oxemias detectadas. En este sentido, el viejo concepto de la anaerobiosis fetal debe ser descartado a la luz de los estudios recientemente llevados a cabo. Así, aunque el feto requiere poca energía para el ejercicio muscular, termogénesis, etc, su metabolismo oxidativo es muy alto. Este dato contrasta con la inmadurez de la mitocondria del hígado fetal en el momento del nacimiento (46, 52, 75). Sin embargo, como hemos visto antes, las concentraciones de oxígeno en sangre fetal caen drásticamente en las proximidades del parto (Fig. 7). Este hecho, junto con la caída de la concentración de nucleótidos adenílicos, y muy especialmente del ATP, durante los dos últimos días de la gestación (Fig. 13), podrían explicar "per se" la baja actividad respiratoria de la mitocondria hepática en el momento del nacimiento.

La glucosa constituye el principal sustrato fetal, utilizándose tanto como fuente de energía como de esqueletos carbonados para la síntesis de estructuras celulares. Como hemos comentado antes, con excepción de los carbonos procedentes de los

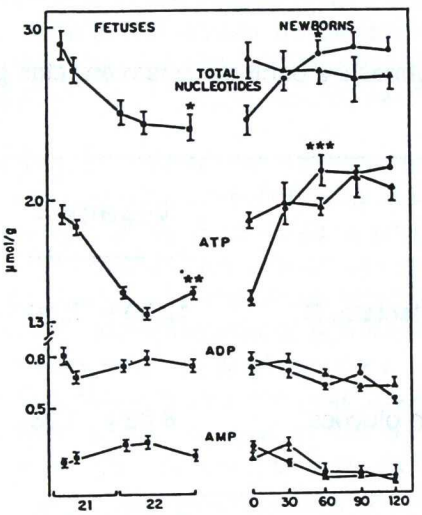


Figura 13.- Concentraciones de nucleótidos energéticos en hígado fetal y de neonatos maduros y prematuros de rata durante el período perinatal.

Tabla VII.- Gluconeogénesis a partir de lactato en ratas gestantes (32).

	Vírgenes	Gestantes
Velocidad de recambio de lactato, R, (µmol/min por 100 g peso)	12.30 ± 2.10	54.02 ± 13.08*
Incorporación de lactato en glucosa (µmol/min por 100 g peso)	8.86 ± 1.08	16.03 ± 1.71**
Porcentaje de R incorporado en glucosa	77.63 ± 10.53	40.51 ± 8.73*

Los resultados son medias ± S.E.M. (n=6). *p <0.01; **p< 0.0025.

aminoácidos, todos los carbonos restantes de los que constituyen las estructuras fetales proceden de la glucosa materna. Asimismo, la glucosa es la principal fuente de energía del feto, que la consume tanto por vía anaerobia como mediante la oxidación terminal a través del ciclo tricarboxílico. Por consiguiente, no es de extrañar que la madre adapte su dotación metabólica para producir la mayor cantidad de glucosa posible. Como hemos visto anteriormente, la gluconeogénesis hepática y renal de la gestante se ponen en funcionamiento (32) para suministrar glucosa al feto.

Otro posible sustrato fetal muy discutido es el lactato, que parece ser utilizado por el feto del cordero, mientras que es producido en exceso por el feto humano y de rata.Sin embargo, aún en este último caso, nuestros resultados indican que no puede descartarse la posibilidad de que el feto de rata utilice lactato como fuente de energía y esqueletos carbonados (25, 31, 7, 35, 51, 61, 62, 64, 68; ver más adelante).

Los requerimientos fetales de aminoácidos son grandes ya que la proliferación celular exige una alta velocidad de síntesis de proteínas. Sin embargo, el feto toma de la madre mucha mayor cantidad de aminoácidos de la necesaria para la síntesis de proteínas, lo que sugiere que el feto utiliza también los aminoácidos como fuente de energía. La mayor parte de los aminoácidos proceden de la madre, siendo transportados vía transplacentaria mediante transporte activo (77). Sin embargo, algunos aminoácidos como el glutamato y el aspartato no proceden de la madre, por lo que resulta evidente que son sintetizados por el propio feto. En este sentido parece evidente, asimismo, que el feto posee la dotación enzimática necesaria para la transformación de la mayor parte de los aminoácidos no esenciales (41). Recientemente se ha demostrado, incluso, que el feto humano produce considerables cantidades de alanina, además de la que toma de la sangre materna . Por otro lado, resulta evidente que existe catabolismo de aminoácidos en el feto, dado que al final de la gestación puede apreciarse la existencia de una moderada ureogénesis. En este sentido, nuestros resultados indican que el feto produce moderadas cantidades de urea, que se acumula en sangre fetal y líquido anniótico (41).

La importancia de los lípidos y, en especial, de los ácidos grasos como sustratos fetales está muy discutida. Sin embargo, parece evidente que los ácidos grasos cruzan la placenta en la especie humana. Al parecer, los ácidos grasos que cruzan la placenta se incorporan a triglicéridos hepáticos antes de ser transportados a los tejidos a la forma de lipoproteínas. Sea como fuere, la concentración de triglicéridos en sangre fetal es aproximadamente tres veces menor que la del adulto, y no se descarta la posibilidad de que procedan de la síntesis "de novo" hepática que sólo cae en las proximidades del parto (10, 17; ver figura 6). En este sentido, los triglicéridos plasmáticos caen entre los días 19 y 21 de gestación, coincidiendo con la caída de la velocidad lipogénica hepática (10). Por otro lado, se ha sugerido que 2/3

SIS
Reina Regente, 5 · Bajo
Apdo. 667
20003 · SAN SEBASTIAN

de los lípidos que cruzan la placenta de rata proceden de la VLDL materna, cuyos triglicéridos podrían ser hidrolizados por la lipoproteína lipasa placentaria. Nuestros resultados son insuficientes para decidir acerca del metabolismo placentario de los triglicéridos maternos. Sin embargo, nuestros resultados (10) demuestran claramente la existencia de una considerable actividad de la lipogénesis "de novo" en placenta (Fig. 14). Dado que nuestro método para medir la actividad lipogénica mide exclusivamente la lipogénesis "de novo" y no la captación de los triglicéridos sanguíneos, nuestros resultados indican que, independientemente del posible trasiego de triglicéridos de la sangre materna a la fetal, la placenta sintetiza sus propios lípidos. Por otro lado, puesto que esta síntesis de lípidos la realiza la placenta durante el último período de la gestación, es decir, cuando las estructuras placentarias están definitivamente establecidas, estos resultados parecen indicar que la síntesis de lípidos "de novo", observada en nuestros experimentos, tiene una clara misión "pro foetus". Por otro lado, la madre envía a el feto cuerpos cetónicos (70) que sirven de sustratos fetales, especialmente en circunstancias excepcionales, tales como durante el ayuno materno.

3. – INFLUENCIA DE FACTORES NUTRICIONALES Y HORMONALES EN EL DESARROLLO MATERNO-FETAL.

Uno de los métodos clásicos para conocer el funcionamiento del metabolismo de los seres vivos consiste en perturbar el sistema, de forma que su inhibición o exacerbación conduzcan a la puesta de manifiesto de las posibles vías metabólicas, así como al conocimiento de su propia regulación. En el caso del estudio del metabolismo fetal, resulta de gran interés el modificar el metabolismo materno mediante alteraciones de alguno, o algunos, de los factores hormonales o nutricionales. El estudio de la respuesta a tales modificaciones puede arrojar una luz considerable en el entendimiento de las pautas metabólicas seguidas por los seres vivos.

En este sentido, hemos sometido a la gestante a tres tratamientos, fundamentalmente. El primero es relativamente sencillo, pero muy ilustrativo de la regulación del metabolismo; nos referimos al ayuno. El segundo es muy complicado desde el punto de vista metodológico pero de una gran utilidad clínica; es decir, la diabetes materna. Por último, el tratamiento materno con corticoides es un método habitual en la clínica como preventivo de la patología asociada a la prematuridad. Por esta razón hemos escogido estos tratamientos que, como vemos, nos podrán ayudar a conocer el metabolismo del feto y de la gestante, a la vez que mejorarían nuestros conocimientos acerca de los efectos primarios y secundarios ejercidos por estos tratamientos.

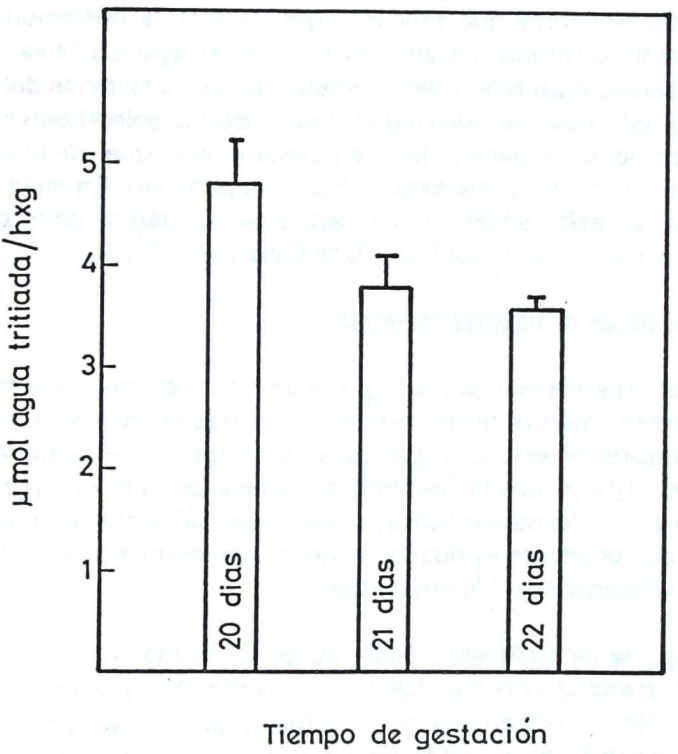


Figura 14.- Lipogénesis *de novo* en placenta de rata durante el último período de la gestación.

3.1.- Influencia del ayuno materno

Hemos estudiado la influencia del ayuno materno sobre la lipogénesis en diversos tejidos maternos (21), con objeto de acercarnos a conocer los efectos de la insuficiencia nutricional en el desarrollo del feto. Nuestros resultados indican que el ayuno materno inhibe la lipogénesis en todos los tejidos maternos y fetales estudiados, con excepción del cerebro fetal (Tabla VII). Este hecho es una de las primeras pruebas bioquímicas a favor de la hipótesis de la "protección" del cerebro fetal en situaciones adversas que tengan lugar durante la gestación. En efecto, incluso la lipogénesis pulmonar se ve afectada por el ayuno (Tabla VIII), hecho insólito si recordamos la importancia de la síntesis de los fosfolípidos del surfactante, que tiene lugar durante este período (Fig.4). Sin embargo, sólo el cerebro mantiene inalterable su capacidad lipogénica, lo que parece indicar que, desde el punto de vista jerárquico, sólo el cerebro mantiene la más alta prioridad. En efecto, el cerebro fetal puede utilizar, en estas situaciones excepcionales, cuerpos cetónicos y lactato que le son enviados por la madre vía transplacentaria (70, 58, 63).

3.2.- Influencia de la diabetes materna

La diabetes experimental causada por administración de estreptozotocina, al igual que la diabetes mellitus no provocada, se caracteriza por la presencia de hiperglucemia e hipoinsulinemia acompañadas de cetosis. En el caso de la diabetes de la gestante, la hiperglucemia materna se refleja en una hiperglucemia fetal permanente. Por esta razón hemos utilizado gestantes diabéticas por tratamiento con estreptozotocina, con objeto de evaluar la influencia del aumento de la disponibilidad de glucosa sobre la lipogénesis "de novo" fetal.

Sin embargo, la hiperglucemia fetal, provocada por la diabetes no controlada de la gestante, no afecta la velocidad lipogénica del hígado y pulmón fetal (Tabla IX; ref. 27). Estos resultados indican que otros factores, además de la disponibilidad de glucosa, son responsables de la regulación de la lipogénesis "de novo" en los tejidos fetales. En este sentido, hay que hacer notar que los niveles de insulina fetal son normales en estas circunstancias (27) lo que, una vez más, señalaría a la insulina como la hormona reguladora de la lipogénesis en los tejidos fetales.

3.3.- Efecto del suplemento de glucosa

Con objeto de dilucidar si la ausencia de efecto de la diabetes materna sobre la lipogénesis hepática y pulmonar del feto se debían a la interferencia de algunos factores no controlados de la diabetes, y no a la falta de efecto de la hiperglucemia fetal concomitante, decidimos estudiar los efectos directos de la glucosa mediante intubación intragástrica de gestantes normales con altas dosis de glucosa pura. Pues

Tabla VIII.- Efecto del ayuno sobre la lipogénesis *"de novo"* en tejidos maternos y fetales durante el último período de la gestación (21).

Estado de los animales	Días de gestación	Tejidos Maternos		Tejidos Fetales		
		Hígado	T. Adiposo	Hígado	Pulmón	Cerebro
Alimentados	20 días	26.1	4.9	16.7	5.7	9.9
	21 días	18.9	6.0	12.5	9.0	8.7
	22 días	13.4	8.3	9.5	8.9	9.1
Ayunados (48h)	20 días	12.1***	3.44	11.9***	4.8*	8.2
	21 días	12.3***	4.8***	9.5**	5.7*	8.0
	22 días	10.5***	4.1***	6.8**	5.0***	8.4

Los resultados vienen expresados en µmol de agua tritiada incorporados en lipídos y son medias (S.E.M. = 5-10%) *p <0.05; **p <0.01; ***p <0.001.

Tabla IX.- Efecto de la diabetes materna sobre la capacidad lipogénica de los tejidos maternos y fetales durante los últimos días de la gestación (27).

Estado de los animales	Días de gestación	Tejidos Maternos		Tejidos Fetales	
		Hígado	T. Adiposo	Hígado	T.Adiposo
Controles	20 días	26.1 ± 1.5	4.9 ± 0.8	16.7 ± 1.2	6.5 ± 0.5
	21 días	18.5 ± 0.8	6.0 ± 0.4	12.5 ± 0.8	8.0 ± 0.4
	22 días	13.4 ± 1.0	8.3 ± 1.0	9.5 ± 0.4	9.0 ± 0.4
Glucosa intragástrica	20 días	25.2 ± 2.4	4.0 ± 0.5	16.9 ± 0.5	6.5 ± 0.5
	21 días	18.2 ± 1.4	5.7 ± 0.5	15.9 ± 0.5***	8.2 ± 0.4
	22 días	13.9 ± 0.8	8.2 ± 0.4	13.3 ± 0.5***	8.5 ± 0.4
Diabéticas (estreptozotocina)	20 días	12.0 ± 1.2***	5.3 ± 0.7	16.2 ± 1.2	6.3 ± 0.5
	21 días	13.4 ± 1.0***	6.3 ± 0.7	12.4 ± 1.0	7.0 ± 0.8
	22 días	10.0 ± 1.0**	6.6 ± 1.0	9.4 ± 0.9	8.7 ± 0.8

Los resultados vienen expresados en µmoles de agua tritiada incorporados en lípidos y son medias ± S.E.M. (n= 6-20) *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001.

bien, la administración de glucosa no afectó a la lipogénesis de los tejidos maternos ni del pulmón fetal. Sin embargo, el tratamiento disminuye significativamente la lipogénesis del hígado de feto (Tabla IX). Este paradójico resultado puede explicarse mediante la hipótesis de que el mecanismo de regulación del metabolismo del glucógeno observado en el adulto, sea operativo durante el período fetal tardío, encauzando la glucosa hacia la síntesis de glucógeno, en detrimento de la lipogénesis.

3.4.- Influencia del tratamiento materno con glucocorticoides.

Es bien conocido que los glucocorticoides se utilizan para acelerar la maduración fetal en circunstancias en que se teme un parto prematuro. Por consiguiente, hemos querido estudiar los efectos metabólicos de los glucocorticoides en el desarrollo fetal.

En este sentido, el tratamiento con dexametasona acelera muy sensiblemente la disminución de la velocidad lipogénica hepática fetal (17, 19). Este hecho coincide con el aumento del depósito de glucógeno en este mismo tejido, a pesar de la aceleración de la glucogenolisis (Fig. 15). Estos resultados indican que el aumento de la síntesis de glucógeno producido por los glucocorticoides disminuye las disponibilidades de sustrato para la lipogénesis. Este hecho indica, a su vez, que la glucosa materna es el principal sustrato de la lipogénesis fetal, de tal manera que al ser requerida por la glucogenosíntesis se priva a la lipogénesis de su principal precursor.

Por otro lado, el tratamiento con glucocorticoides aumenta la concentración de fosfolípidos del surfactante pulmonar (Fig. 16), lo que parece indicar que los glucocorticoides mejoran las propiedades tensioactivas del surfactante (ver más adelante). Asimismo, el tratamiento con glucocorticoides no inhibe la glucogenolisis pulmonar (Fig. 17), permitiendo el suministro de la principal fuente de esqueletos carbonados para la síntesis de los fosfolípidos del surfactante (38).

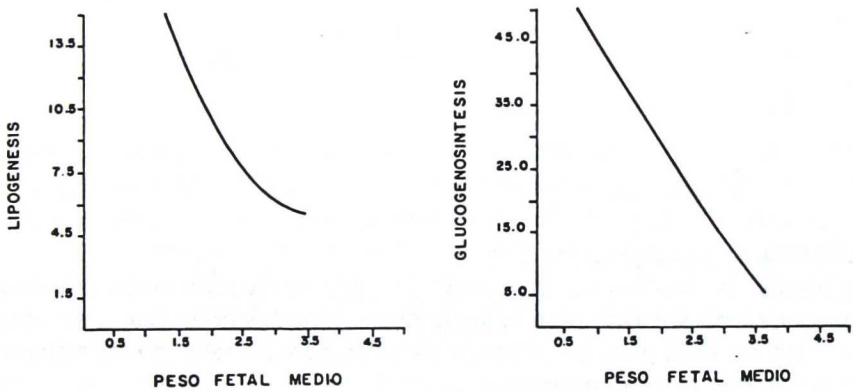


Figura 15.- Efecto del tratamiento materno con dexametasona sobre la lipogénesis "*de novo*" y la síntesis de glucógeno en hígado de feto durante el último período de la gestación.

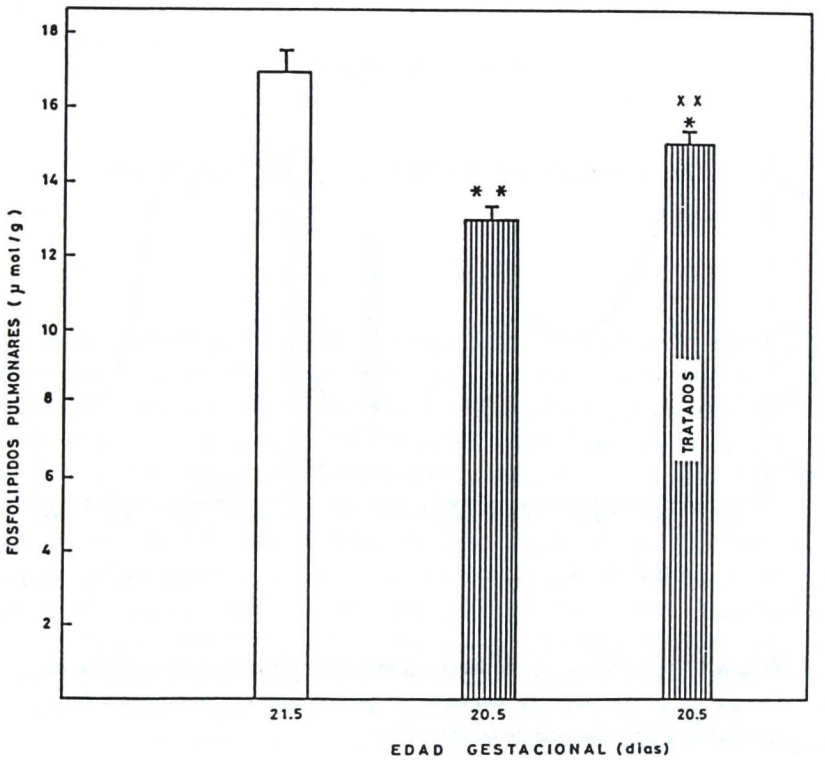


Figura 16.- Efecto del tramiento materno con dexametasona sobre la concentración de fosfolípidos del surfactante pulmonar.

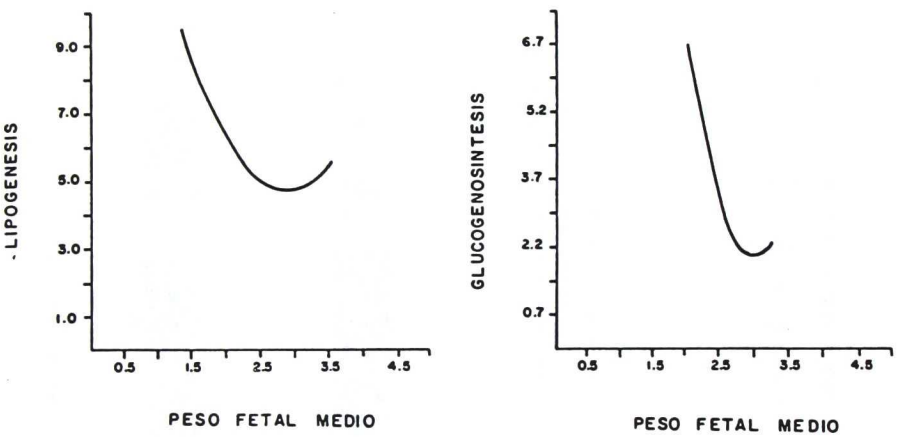


Figura 17.- Efecto del tratamiento materno con dexametasona sobre la lipogénesis "*de novo*" y síntesis de glucógeno en pulmón de feto durante el último período de la gestación.

CAPITULO II

HOMEOSTASIS ENERGETICA PERINATAL

El principal objetivo del presente trabajo ha consistido en aportar datos que nos permitan conocer, con mayor profundidad, la homeostasis energética del recién nacido prematuro. En efecto, si durante la vida adulta es de vital importancia el suministro constante de sustratos energéticos a los diversos tejidos, cualesquiera que sean las circunstancias nutricionales, durante la adaptación a la vida extrauterina, el mantenimiento de la homeostasis energética resulta vital para la propia supervivencia del recién nacido. Por esta razón, el feto se prepara teleonómicamente para el momento del parto, que si bien es un episodio único en la vida de cada ser, constituye uno de los momentos de mayor dificultad y peligro. Gracias a esta preparación "pre-partum", el neonato puede sobrevivir con sus propias reservas hasta que la leche materna le suministre los nutrientes necesarios para su mantenimiento y desarrollo. En este sentido, hemos estudiado los sistemas encargados del suministro de glucosa durante la vida neonatal temprana. De acuerdo con nuestros resultados, podemos afirmar que la inducción postnatal de la glucogenolisis y la gluconeogénesis ocurre tardíamente en el neonato prematuro, hasta tal punto, que las disponibilidades de glucosa están peligrosamente restringidas durante las primeras horas de vida extrauterina. Este hecho sitúa al prematuro ante una situación extremadamente difícil, ya que tiene que sobrevivir a una transición metabólica muy comprometida con escasísimas reservas energéticas.

Por otro lado, la hipoxia que sufre el neonato prematuro como consecuencia de su inmadurez pulmonar inhibe la utilización de lactato, lo que supone un importante hándicap metabólico para el recién nacido prematuro. En efecto, la inhibición de la utilización del lactato no sólo promueve la persistencia de la acidosis sino que, aún más importante, priva al cerebro de su más importante sustrato

metabólico durante este período. En efecto, nuestros resultados indican que el lactato es el sustrato más importante del cerebro neonatal en el período que sigue al parto. Asimismo, la hipoxia inhibe la utilización de lactato, lo que sitúa al cerebro del neonato prematuro en una situación de precariedad energética. Por otro lado, parte del lactato se utiliza en la síntesis de las estructuras cerebrales, lo que parece indicar que la inhibición de la utilización de lactato observado en el neonato prematuro conduce a la malformación de las estructuras del cerebro, de cuyas consecuencias posiblemente se derivarían disfunciones cerebrales importantes.

1.- ADAPTACION METABOLICA A LA VIDA EXTRAUTERINA

Como hemos visto anteriormente (Fig. 1), el neonato pasa, en un corto período de tiempo, de la dependencia materna más absoluta a la plena autonomía metabólica. Durante esta transición, el recién nacido sufre un ayuno considerable, al que sigue el suministro de una dieta rica en grasas. Evidentemente, a la hora de suministrar energía en el menor volumen posible, la naturaleza ha seleccionado una delicada emulsión de grasas a la que denominamos leche. Sin embargo, desde el punto de vista metabólico, las grasas requieren una maquinaria degradativa complicada, lo que obliga al neonato a proveerse desde el primer momento de vida extrauterina, de la maquinaria metabólica más sofisticada. Comprendemos ahora la necesidad de la minuciosa preparación "prepartum" que hemos comentado en los apartados anteriores. Evidentemente, el feto tiene que estar preparado hasta en los menores detalles para afrontar una transición tan difícil y peligrosa.

En este sentido, vamos a ver a continuación cómo inmediatamente tras el parto, el recién nacido pone en funcionamiento todos y cada uno de los procesos metabólicos preelaborados durante el preparto, consiguiendo con éxito adaptarse a la vida extrauterina, tan diferente al confortable parasitismo fetal. En efecto, inmediatamente tras el parto, el glucógeno hepático que se había acumulado en grandes cantidades (Fig. 18 ref. 7), se degrada masivamente, suministrando a los tejidos neonatales el principal sustrato metabólico, es decir, la glucosa. Las señales hormonales que dirigen este extraordinario cambio, es decir, el de la inducción de la glucogenolisis, no están aclaradas en todos sus extremos (ver más adelante). Sin embargo, parece probable que la obliteración del cordón umbilical es la espoleta de este complicado proceso. En efecto, la obliteración del cordón umbilical provoca el aumento de la presión sanguínea como consecuencia de la disminución de la resistencia periférica. El aumento de la presión sanguínea es detectada por los barorreceptores fetales que ordenan la secreción de catecolaminas. Por último, estas hormonas provocan a nivel pancreático la secreción de glucagón y la inhibición de la de insulina. El resultado es la caída drástica de la razón insulina/glucagón (6, 28) y la subsecuente glucogenolisis (48).

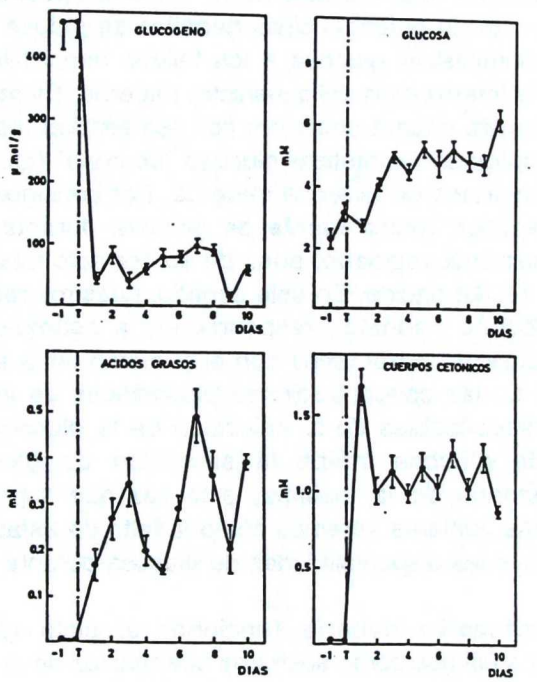


Figura 18.- Concentraciones de glucógeno hepático, glucosa, ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos plasmáticos en feto y neonato de rata durante el período perinatal.

Llama la atención, sin embargo, que, a pesar de la fortísima glucogenolisis observada, las concentraciones normales de glucosa en sangre no se alcancen hasta transcurridos dos o tres días de vida extrauterina (Fig. 18). Este hecho pone de manifiesto que el gasto de glucosa que tiene lugar inmediatamente tras el nacimiento es tan intenso, que no permite la recuperación de la glucemia hasta que, pasado el tiempo, tenga lugar la inducción de la gluconeogénesis.

Con respecto a la glucogenolisis hepática postnatal, hemos investigado (5, 6) los principales factores responsables de la inducción postnatal de la glucolisis. En este sentido (Fig. 18), la glucogenolisis hepática se induce inmediatamente tras el nacimiento para suministrar glucosa a los tejidos neonatales, faltos de ella como consecuencia de la interrupción del suministro materno. Es más, en tanto no se inicie la lactancia, el neonato deberá sobrevivir con sus propias reservas y, aún durante la lactancia, estará obligado a sintetizar glucosa "de novo" (gluconeogénesis), dada la pobreza en carbohidratos de la leche materna. Por consiguiente, la inducción de la glucogenolisis hepática (única fuente de glucosa durante la prelactancia) es un proceso cuidadosamente regulado, pues de su correcto funcionamiento depende la supervivencia del recién nacido. En este sentido, nuestros resultados indican (6) que el páncreas endocrino neonatal, respondiendo a estímulos aún no dilucidados, responde a la exposición extrauterina con el aumento de la secreción de glucagon y la caída drástica de las concentraciones plasmáticas de insulina (Fig. 19). Estos hechos son los responsables de la inducción de la glucogenolisis, puesto que la administración de glucosa inhibe la secreción de glucagón, así como del aclaramiento postnatal de la insulina, a la vez que suprime la inducción de la glucogenolisis. Más adelante veremos cómo la falta de estas señales en el neonato prematuro disminuye las disponibilidades de glucosa durante la prelactancia (28).

En esta situación debería funcionar el ciclo glucosa/ácidos grasos, suministrando estos últimos como sustratos alternativos de la glucosa. Esto es lo que aparentemente ocurre si observamos el incremento postnatal de la concentración de ácidos grasos (Fig. 18). En efecto, inmediatamente tras el nacimiento la concentración de ácidos grasos se eleva extraordinariamente en sangre. Estos ácidos grasos, sin embargo, proceden de los triglicéridos lácteos, al carecer la rata en el momento del nacimiento de tejido adiposo blanco. Sea como fuere, los ácidos grasos plasmáticos están presentes y sustituyen a la glucosa en todos aquellos tejidos capaces de utilizarlos. La mayoría de los tejidos así lo hacen, utilizando esta excelente fuente de energía que se les ofrece. Sin embargo, aquellos tejidos que requieren exclusivamente glucosa, -al carecer de la dotación enzimática necesaria para la oxidación de ácidos grasos-, se ven obligados a utilizar la escasa glucosa disponible.

En este sentido, a pesar de la intensa glucogenolisis postnatal, la recuperación de la glucemia ocurre tardíamente (Fig. 20; ref. 24, 74), lo que sugiere

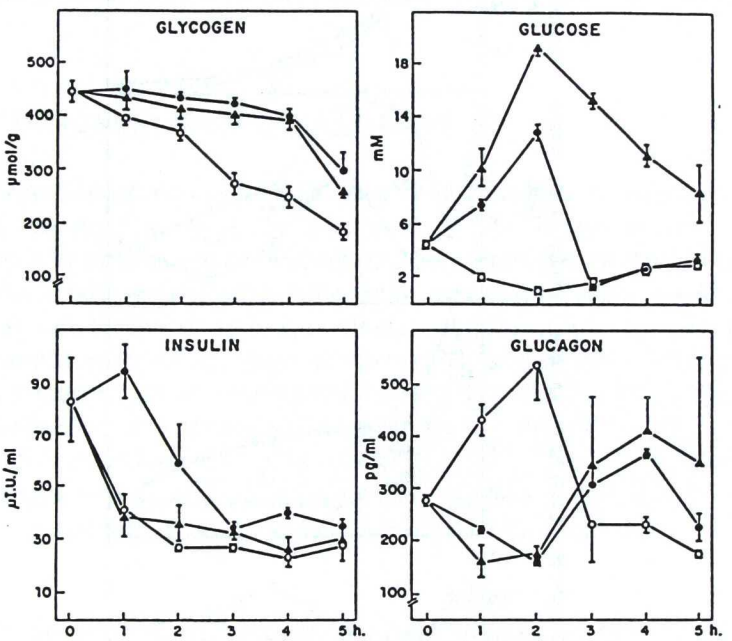


Figura 19.- Concentraciones de glucógeno, glucosa, insulina y glucagón en sangre de neonato de rata durante las cinco primeras horas de vida extrauterina.

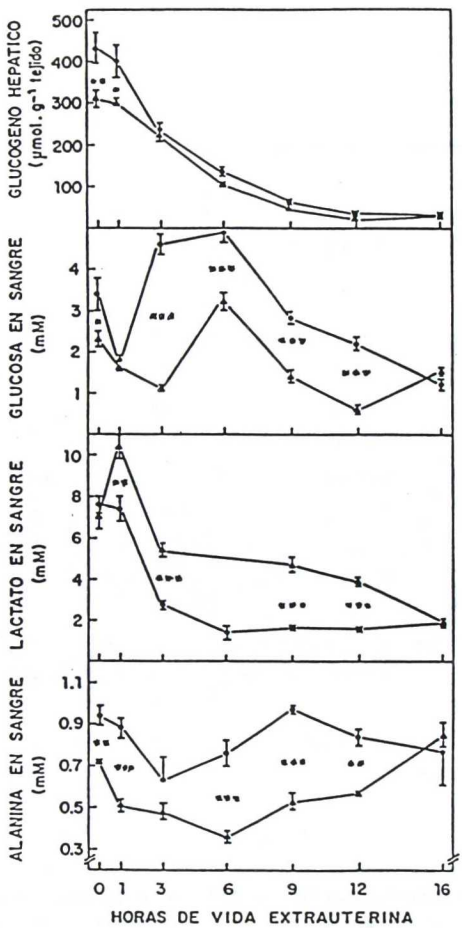


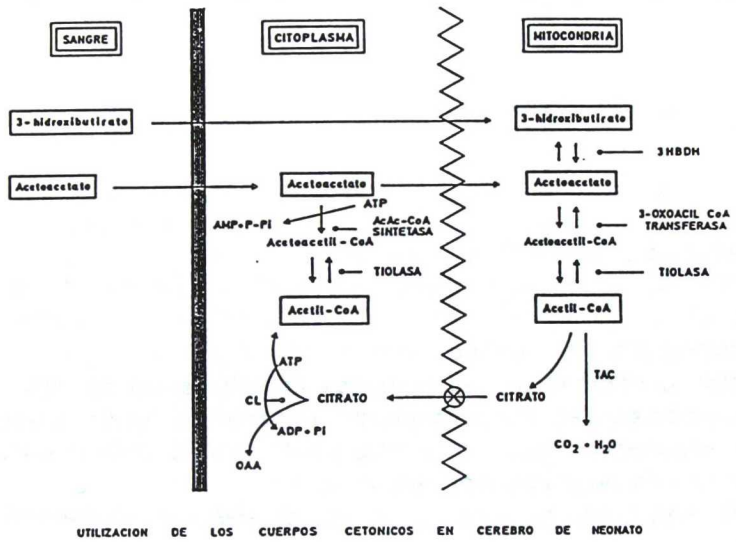
Figura 20.- Concentración de los principales metabolitos energéticos en sangre de neonatos de rata durante las primeras horas de vida extrauterina. Círculos: neonatos maduros. Triángulos: neonatos prematuros.

que otros procesos, tales como la gluconeogénesis, podrían ser los responsables del mantenimiento de la glucemia a largo plazo. En este sentido, hemos investigado la actividad de las enzimas gluconeogénicas, así como la velocidad de síntesis de glucosa, en neonatos de rata prematuros en comparación con los maduros (24, 26). Nuestros resultados indican que la tardía recuperación de la glucemia observada en los neonatos prematuros es consecuencia del retraso de la inducción en la gluconeogénesis hepática. Sin embargo, la gluconeogénesis renal se induce más rápidamente en el neonato prematuro, hecho que parece indicar la existencia de un intento de paliar el retraso de la gluconeogénesis hepática (ver más adelante).

2.- HOMEOSTASIS ENERGETICA DEL CEREBRO

Los tejidos neonatales requieren durante la lactancia no sólo energía para su supervivencia como en el caso del adulto sino, muy especialmente, esqueletos carbonados para la síntesis de las estructuras de sus tejidos en desarrollo. Es decir, no pueden reducir sus necesidades como en el caso del individuo adulto, puesto que sus estructuras celulares deben seguir desarrollándose. En este sentido, destaca muy notablemente el cerebro, cuyo desarrollo principalmente postnatal exige el suministro constante de los carbonos constituyentes de las mielinas y otras estructuras cerebrales. Por consiguiente, es necesario recurrir a otros sustratos, que aunque esporádicos durante la vida adulta, van a cumplir un papel primordial durante la vida neonatal. Nos referimos a los cuerpos cetónicos que, durante la lactancia, van a ser los sustratos fundamentales para el desarrollo postnatal del cerebro.

En este sentido, el neonato de rata pone en funcionamiento la cetogénesis inmediatamente tras el nacimiento, transformando masivamente en cuerpos cetónicos los ácidos grasos plasmáticos (67). Por consiguiente, los cuerpos cetónicos aumentan en sangre inmediatamente tras el parto, manteniéndose en concentraciones muy elevadas durante toda la lactancia (Fig. 18). Por otro lado, el cerebro del neonato está perfectamente preparado para la utilización de los cuerpos cetónicos, dado que las enzimas necesarias están muy aumentadas durante toda la lactancia. En este sentido, es importante recordar que el cerebro del neonato tiene que utilizar los cuerpos cetónicos no solamente como fuente de energía, sino también como suministradores de los esqueletos carbonados necesarios para su crecimiento y desarrollo. Por consiguiente, parte de los acetilCoA resultado de la lisis mitocondrial del acetoacetil-CoA (Fig. 21), deben destinarse a la síntesis de lípidos. Sin embargo, dado que la maquinaria lipogénica es citoplasmática, el acetil-CoA destinado a este fin debe salir de la mitocondria en la única forma posible, es decir, en forma de citrato. Sin embargo, el transporte de acetil-CoA en forma de citrato es un proceso que consume energía, dado que la citrato liasa (CL en la Fig. 21) requiere



UTILIZACION DE LOS CUERPOS CETONICOS EN CEREBRO DE NEONATO

Figura 21.- Utilización de cuerpos cetónicos en cerebro de neonato de rata. AcAc-CoA: acetoacetil-CoA; CL: cítrato liasa; 3HBDH: 3-hidroxibutirato deshidrogenasa; TAC: Ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Basado en Williamson and Buckley: "The role of ketone bodies in brain development"; en: Inborn Errors of Metabolism. Homes and Van der Berg. (eds.) Academic Press, London, pgs. 81-96, (1973).

la hidrólisis de una molécula de ATP por molécula de acetil-CoA liberado. Pues bien, para evitar este considerable dispendio de energía, el cerebro del neonato posee una enzima exclusiva del cerebro en desarrollo: la acetoacetil-CoA sintetasa. Esta enzima cataliza la conversión directa de acetoacetato en acetoacetil-CoA en el propio citoplasma, sin necesitar, por consiguiente, el concurso de las enzimas mitocondriales. Por otro lado, la reacción catalizada por la acetoacetil-CoA sintetasa requiere un ATP por acetoacetil-CoA sintetizado, lo que supone la mitad de gasto de ATP que en el caso de la vía de la citrato liasa, puesto que esta última requiere dos moléculas de ATP por cada molécula de acetoacetil-CoA sintetizado. Es importante destacar que la enzima que permite este considerable ahorro de energía, es decir, la acetoacetil-CoA sintetasa, no existe en ningún otro tejido diferente del cerebro y queda reducida a cantidades insignificantes durante la vida adulta. Este hecho indica claramente que la presencia de esta enzima en el cerebro neonatal tiene la misión, exclusiva y transitoria, de servir de camino para la síntesis de las estructuras cerebrales a partir de los cuerpos cetónicos plasmáticos.

En el caso del recién nacido humano (Fig.22) la situación postnatal parece ser similar. En efecto, la hipoglucemia postnatal se compensa con el aumento de los ácidos grasos plasmáticos, lo que más tarde se traduce en el aumento de la concentración de cuerpos cetónicos. En este caso, los ácidos grasos plasmáticos son de origen endógeno, ya que el neonato humano posee en el momento del nacimiento reservas lipídicas movilizables. Por consiguiente, los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos sustituyen a la glucosa como sustratos alternativos. De esta manera, la homeostasis energética está asegurada y todos los tejidos disponen de sustratos para su crecimiento y desarrollo.

Sin embargo, si observamos la evolución de la concentración plasmática de cuerpos cetónicos (Fig. 22), podemos apreciar que existe un largo período, inmediatamente tras el parto, en que la concentración de cuerpos cetónicos apenas aumenta significativamente. Asimismo, la lipolisis, es decir, la liberación de ácidos grasos a sangre, no es tan inmediata como podría esperarse. Por otro lado, cuando la lipolisis tiene finalmente lugar, la aparición de ácidos grasos en sangre no se acompaña del aumento de la concentración de cuerpos cetónicos (Fig. 22). La explicación de este fenómeno, aparentemente paradójico, parece radicar en el hecho de que el hígado neonatal carece de carnitina, un cofactor esencial para el transporte de los ácidos grasos al interior de la mitocondria. Es bien sabido, que el transporte de los ácidos grasos al interior de la mitocondria es imprescindible para su transformación en cuerpos cetónicos. Sólo cuando la leche materna su ministre la carnitina necesaria, la oxidación de los ácidos grasos será finalmente posible y, consecuentemente, la cetogénesis.

Como vemos.durante el período postnatal inmediato, tanto en el hombre como en la rata existe un retraso en la sustitución de la glucosa por los ácidos grasos y/o

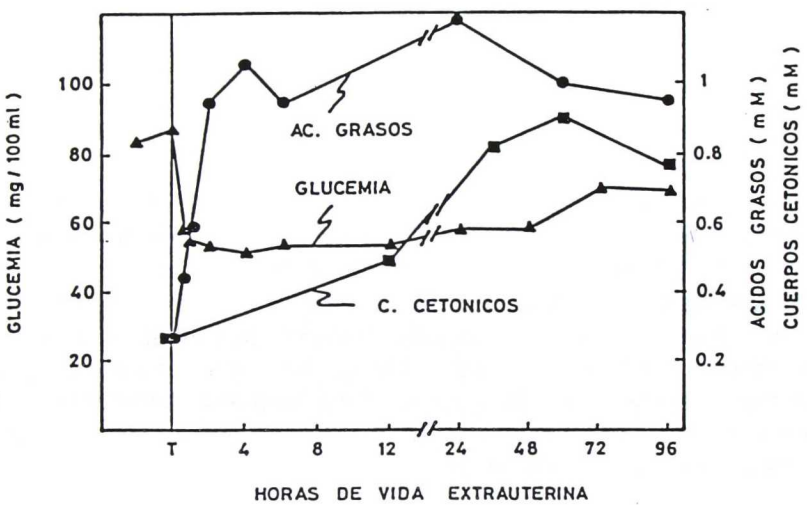


Figura 22.- Concentraciones de glucosa, ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos en sangre de recién nacido humano durante las primeras horas de vida extrauterina. Datos recogidos por Exton: "Gluconeogénesis". Metabolism, 21, 945-990 (1972).

cuerpos cetónicos. En el caso del hombre, como consecuencia del retraso de la liberación de ácidos grasos endógenos, a lo que se une la necesidad de esperar a la lactancia para disponer de la carnitina, imprescindible para la conversión de los ácidos grasos en cuerpos cetónicos. En el caso de la rata, porque tiene que esperar a la lactancia para disponer no sólo de los cofactores necesarios, sino de los propios ácidos grasos, únicos precursores de los cuerpos cetónicos. El resultado final es que, durante la prelactancia, tanto una especie como la otra es incapaz de sustituir rápidamente la glucosa por otros sustratos energéticos. Por consiguiente, el lapso de tiempo transcurrido entre el nacimiento y el comienzo de la lactancia se caracteriza por el ayuno total del neonato, que tiene que sobrevivir a costa de sus propias reservas. Se entiende ahora la importancia de la minuciosa preparación del feto durante el último período de la gestación. Tiene como objeto la de preparar al feto para esta "esperada" situación postnatal.

No conocemos con precisión las razones que obligan al ayuno postnatal. Posiblemente se trata de la incompatibilidad de la succión de la leche con la aún imperfecta ventilación pulmonar. O, aún más importante, el retraso de la lactogénesis materna, que sólo se inicia relevada la madre de sus obligaciones con el "conceptus". Sea como fuere, el neonato sufre un importante ayuno durante las primeras horas de vida extrauterina, ayuno ciertamente anunciado por la preparación "prepartum" del feto. Es más, la supervivencia postnatal depende de este crítico período. De hecho, la morbi-mortalidad postnatal tiene su origen, en la mayor parte de los casos, en el período perinatal. Por consiguiente, la superviviencia postnatal, así como el normal funcionamiento de sus tejidos y órganos, depende de la correcta adaptación a la vida extrauterina inmediata.

De lo anteriormente expuesto se deduce que la prelactancia se caracteriza por un severo ayuno que obliga al neonato a sobrevivir a costa de sus propias reservas. Sin embargo, la glucosa procedente del glucógeno es escasa y debe reservarse para aquellos tejidos que viven exclusivamente de ella (hematíes, tejidos oculares, gonadales, etc.). Por consiguiente, en estas circunstancias son necesarios otros sustratos capaces de suministrar la energía necesaria a los tejidos neonatales. Entre los posibles sustratos candidatos, podemos mencionar al lactato, la alanina y el glicerol. Sin embargo, este último sólo aparece en sangre una vez comenzada la lactancia (procede de la hidrólisis de los triglicéridos lácteos). Por otro lado, la alanina, aunque se consume durante la prelactancia (49), no es cuantitativamente importante. Por consiguiente, sólo el lactato parece ser un buen candidato para servir de sustrato alternativo a la glucosa durante la prelactancia.

En efecto, durante el último período de la gestación se observa un acúmulo sustancial de lactato, que puede alcanzar en el momento del nacimiento concentraciones diez veces superiores a las normales en el individuo adulto (Fig. 23; ref. 33, 50). Sin embargo, inmediatamente después del nacimiento el lactato se

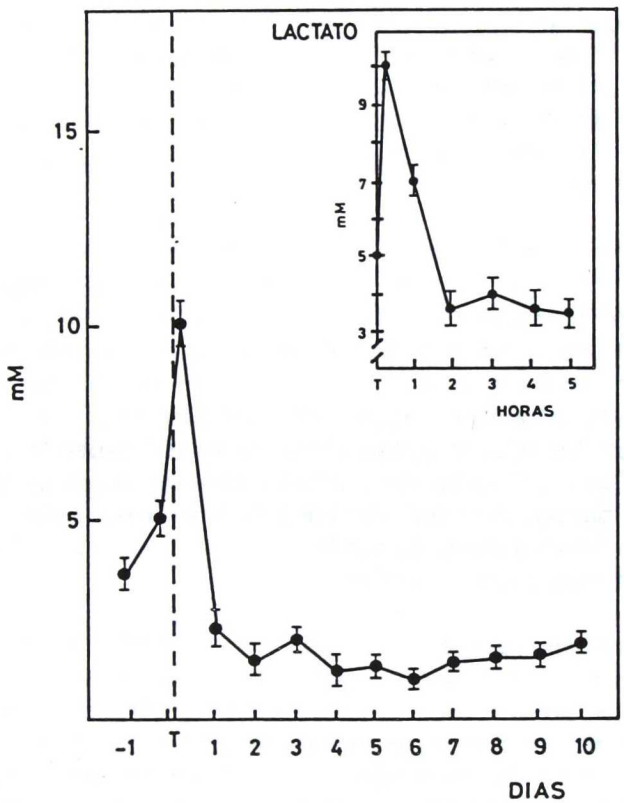


Figura 23.- Concentración de lactato en plasma de neonato de rata durante el período perinatal.

consume rápidamente hasta alcanzar las concentraciones normales. Si observamos más atentamente este fenómeno, podemos comprobar que el consumo masivo de lactato tiene lugar durante las dos primeras horas de vida extrauterina (Fig. 23, inserto). Por consiguiente, la mayor parte del lactato acumulado se consume precisamente durante la prelactancia, lo que sugiere que el lactato es un sustrato importante para el neonato en estas circunstancias. Asimismo, su alta concentración en sangre en el momento del nacimiento, junto con su alto valor energético, sugieren que el lactato es un sustrato cuantitativamente importante durante este período. Pero el verdadero significado fisiológico del lactato como sustrato energético neonatal se pone claramente de manifiesto tras el descubrimiento de que, en estas circunstancias, el lactato se consume por vía oxidativa a través del ciclo tricarboxílico (4). Es decir, durante la prelactancia el lactato se utiliza mayoritariamente como sustrato energético y no como fuente de esqueletos carbonados para la gluconeogénesis (Tabla X). Se trata, pues, de un sustrato energético que sustituye a la glucosa en un momento en que las disponibilidades de ésta están muy reducidas. Por otro lado, el consumo del lactato no requiere, probablemente, señales hormonales condicionadas al parto. De hecho, los datos experimentales parecen indicar claramente que el óxígeno -disponible tras el establecimiento de la ventilación pulmonar- es el único responsable del inicio y mantenimiento del consumo de lactato en estas circunstancias (33, 50). Por consiguiente, la sola circunstancia de la presencia del oxígeno constituye la orden para el consumo de este importante sustrato. De hecho, sólo la inmadurez pulmonar y la hipoxemia concomitante impiden la utilización de lactato. Este es el caso de los neonatos prematuros cuya inmadurez pulmonar no le permite el establecimiento de la transferencia de oxígeno a través de la membrana alveolar, lo que se traduce en una menor disponibilidad de oxígeno para los tejidos neonatales y la inhibición de la utilización de lactato (ver más adelante).

Por consiguiente, el lactato es un importante sustrato energético que se utiliza en un período neonatal crítico caracterizado por la escasez de recursos energéticos. Pues bien, los datos de que disponemos indican claramente que el cerebro del neonato de rata utiliza lactato durante el período postnatal inmediato (25). De hecho, cortes de cerebro de neonato de rata incubados "in vitro" utilizan lactato, mostrando las máximas velocidades de oxidación a las concentraciones fisiológicas de lactato (25, 64; ver Fig. 24). Asi mismo, la lipogénesis "de novo" a partir de lactato es también muy alta en estas circunstancias (Fig. 25; ref. 25, 35, 51, 61, 62, 64, 68), lo que indica claramente que el lactato es un importante sustrato para el cerebro neonatal durante el período postnatal inmediato. Es más, cuando se compara la utilización de lactato con la de otros posibles sustratos cerebrales (Fig. 25) sorprende comprobar que la oxidación de lactato es diez veces superior a la de glucosa y cuatro a la de 3-hidroxibutirato (35, 51, 64). Por otro lado, la lipogénesis "de novo" a partir de lactato es dos veces superior a la observada a partir de glucosa y cinco veces superior a la observada a partir de 3-hidroxibutirato (35, 51, 64). Estos resultados indican

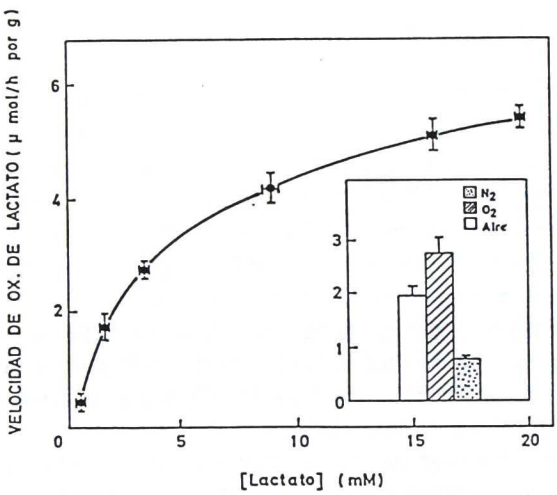


Figura 24.- Oxidación terminal de lactato en cortes de cerebro de neonato a termino. En el inserto la concentración de lactato es de 5mM y el gas respirado por el corte de cerebro viene indicado por el tipo de barra. Los resultados son medias ± S.E.M.

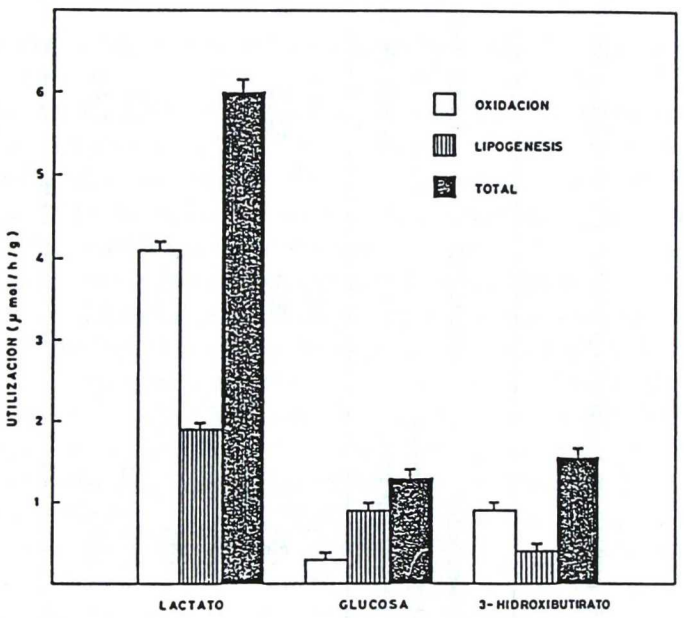


Figura 25.- Utilización de los principales sustratos metabólicos en cortes de cerebro de neonato de rata a término.

Tabla X. Destino del lactato en neonatos maduros y prematuros de rata (24).

Tiempo de vida extrauterina (h)		C02 Radiactivo respiratorio (dpm x 10-3/h)	Radiactividad específica del lactato dpm x10-3/µmol)	Lactato total (µmol)	Lactato respirado (µmol/h)	(% del Lt inicial)	Lactato producido (µmol/h)	(% del Lt inicial)
0	Maduros	---	1901	46.7	---	---	---	---
1		2096 ± 27	126 ± 4	48.0	13.3	28.4	+14.6	31.3
2		1758 ± 50	82 ± 4	27.9	16.9	36.2	- 3.2	---
0	Prematuros	---	400	22.2	---	---	---	---
1		423 ± 26	245 ± 30	27.1	1.3	5.9	+ 6.2	27.9
2		1118 ± 44	148 ± 8	26.1	5.7	25.6	+ 4.7	21.2

Los resultados son medias ± S.E.M. (n = 7-10).

claramente que el lactato es el sustrato más importante para el cerebro neonatal en estas circunstancias, superando a la glucosa y a los cuerpos cetónicos como fuente de energía y esqueletos carbonados.

Nuestros resultados indican, asimismo, que el cerebro fetal tiene una alta capacidad de utilización de lactato durante los últimos días de la gestación (Fig. 26: ref.25). Sin embargo, es improbable que durante la vida fetal el cerebro haga uso de esta capacidad, ya que el consumo de lactato depende en gran parte del oxígeno disponible, siendo las concentraciones de oxígeno en sangre muy bajas durante la vida fetal tardía (22, 23, 38).

El papel del lactato como principal sustrato cerebral durante la prelactancia viene corroborado por nuestros más recientes resultados (35, 68) sobre la competencia del lactato con sus dos principales sustratos alternativos, es decir, la glucosa y los cuerpos cetónicos. En este sentido, la presencia de lactato inhibe fuertemente la utilización de glucosa (Fig. 27), tanto en su oxidación terminal a CO_2 como, muy significativamente, en su transformación en lípidos cerebrales. Por consiguiente, estos resultados sugieren que el cerebro neonatal prefiere el lactato mejor que la glucosa en estas circunstancias. Esto es lógico si se piensa que, a la vez que se utiliza un sustrato fuertemente energético y casi exclusivamente cerebral, se contribuye muy decisivamente a la remisión de la hiperlactiacidemia (Fig. 23) que subsecuentemente mantiene la acidosis metabólica. La utilización de lactato en vez de glucosa, reserva a ésta para aquellos tejidos (hematíes, tejidos oculares, gónadas, etc) que se sustentan de glucosa como único sustrato metabólico. Este hecho es de vital importancia en el mantenimiento de la homeostasis energética de los tejidos neonatales. Por otro lado, la presencia de glucosa no afecta significativamente la utilización de lactato (Fig. 28), lo que corrobora la idea de que en presencia de ambos sustratos el cerebro neonatal utiliza lactato, reservando a la glucosa para otros tejidos cuyo "menú" de sustratos es muy restringido.

Por lo que respecta a los otros importantes sustratos celulares durante este período, es decir, los cuerpos cetónicos, la presencia de lactato aumenta la utilización de cuerpos cetónicos en cerebro de neonato a término (Fig. 29). Estos resultados (35, 68) sugieren que, una vez establecida la lactancia, los cuerpos cetónicos procedentes de la oxidación de los ácidos grasos lácteos pueden libremente utilizarse en presencia del lactato remanente, hasta el punto de que el lactato favorece el consumo de cuerpos cetónicos tanto para servir como fuente de energía, como de esqueletos carbonados para la lipogénesis. Aún más importante, nuestros resultados (35, 68) indican que la presencia de 3-hidroxibutirato, es decir, el principal cuerpo cetónico, inhibe fuertemente la utilización de lactato por el cerebro neonatal (Fig. 30). El significado fisiológico de estos resultados es evidente: cuando los cuerpos cetónicos están presentes, el lactato remanente se reserva como sustrato de la gluconeogénesis hepática y renal, proceso muy activo en el recién nacido tres

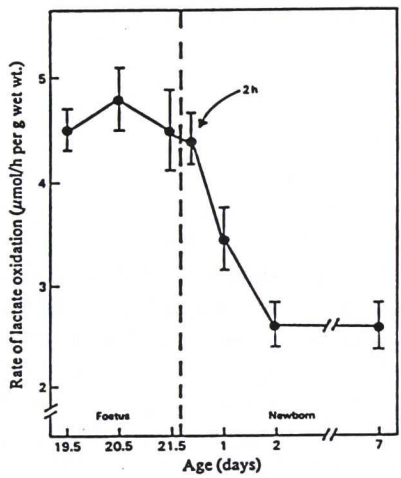


Figura 26.- Capacidad cerebral de oxidación terminal de lactato durante el período perinatal.

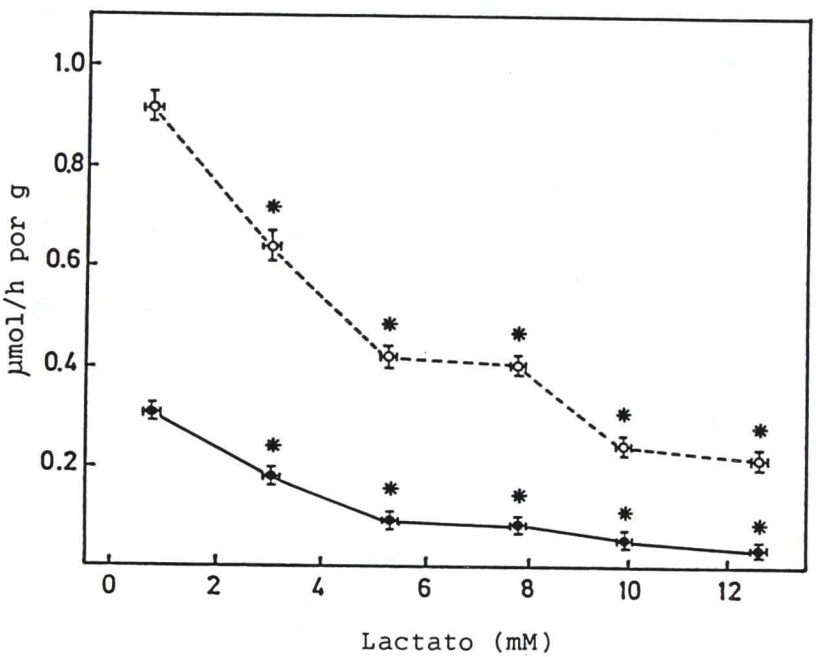


Figura 27.- Oxidación terminal (-●-) y lipogénesis (-o-) a partir de glucosa en presencia de concentraciones crecientes de lactato en cerebro neonatal "*in vitro*" $p < 0.01$ con respecto a los valores iniciales.

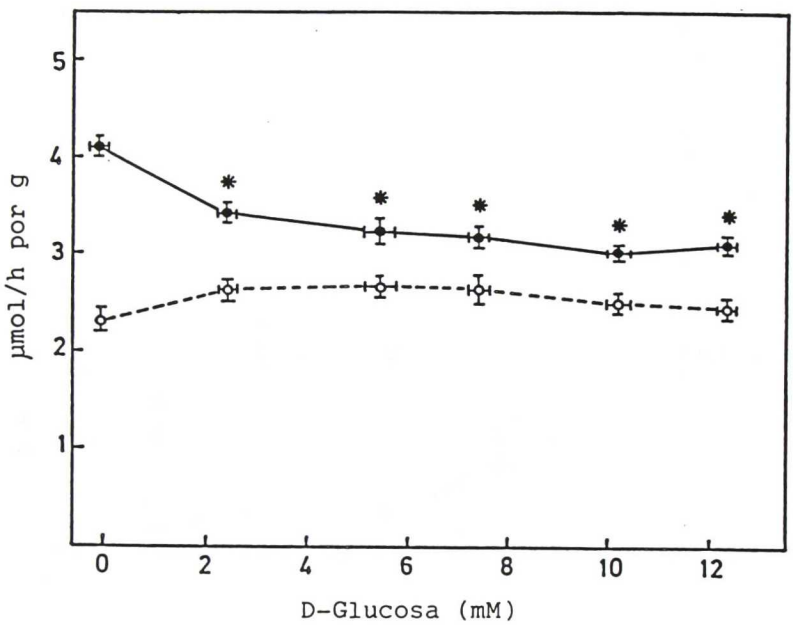


Figura 28.- Oxidación terminal (-●-) y lipogénesis (-o-) a partir de lactato en presencia de concentraciones crecientes de glucosa en cerebro neonatal *"in vitro"* *p < 0.01 con respecto a los valores iniciales.

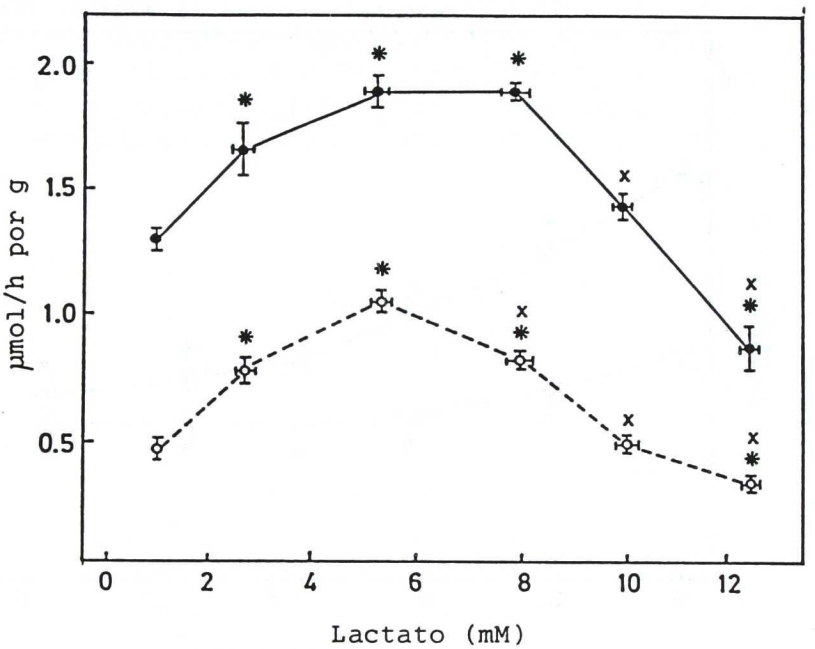


Figura 29.- Oxidación terminal (-●-) y lipogénesis (-o-) a partir de 3-hidroxibutirato en presencia de lactato en cerebro neonatal "*in vitro*" *p < 0.01 con respecto a los valores iniciales, x p < 0.01 con respecto a los valores máximos.

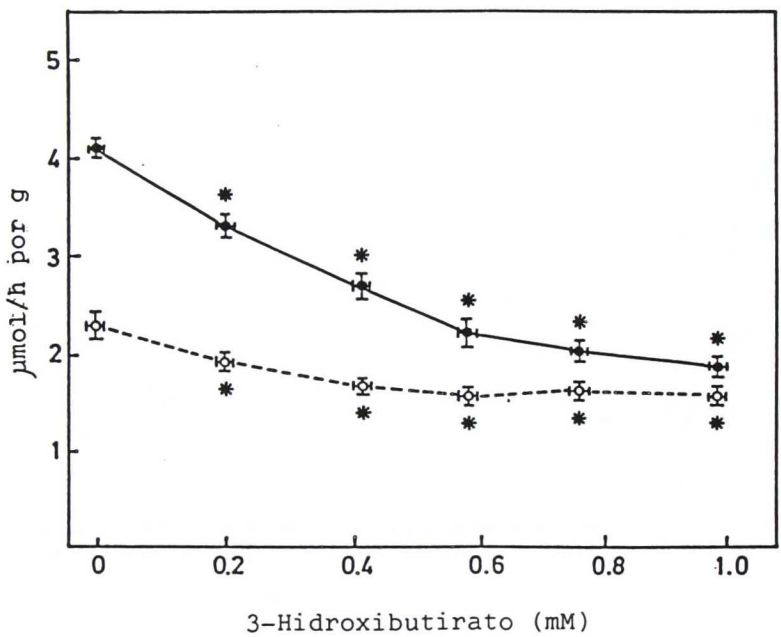


Figura 30.- Oxidación terminal (-●-) y lipogénesis (-o-) a partir de lactato en presencia de 3-hidroxibutirato en cerebro neonatal *"in vitro"* *p < 0.01 con respecto a los valores iniciales.

horas después del nacimiento (24, 26).

En resumen, el lactato es un excelente sustrato metabólico para el cerebro y otros tejidos neonatales (67) del neonato durante la vida extrauterina inmediata. El cerebro neonatal utiliza lactato no solamente como sustrato energético, sino también como fuente de carbonos para la síntesis de las estructuras cerebrales. Constituye, pues, el sustrato puente entre la glucosa materna del período fetal y los cuerpos cetónicos producto de la oxidación de los ácidos grasos lácteos. Gracias al lactato, el cerebro puede desarrollarse aún en una situación tan crítica como es la prelactancia. No es de extrañar, pues, que el menor impedimento para la utilización de lactato cause trastornos tan importantes en el desarrollo cerebral. Este puede ser el caso del neonato prematuro (ver más adelante), cuya morbilidad puede estar directamente relacionada con la imposibilidad de utilizar lactato durante las primeras horas de vida extrauterina.

CAPITULO III

VULNERABILIDAD BIOQUIMICA DEL NEONATO PREMATURO

El motivo principal del presente trabajo ha consistido en el estudio del metabolismo del neonato prematuro, con objeto de objetivar bioquímicamente las causas de la vulnerabilidad metabólica del recién nacido prematuro. Sin embargo, para abordar este problema con la amplitud y rigor necesarios, nos vimos obligados a buscar un modelo experimental que se ajustase en lo posible a la situación real en el neonato humano. Por las razones antes mencionadas, (ver "Introducción"), la rata presentaba las suficientes similitudes metabólicas y de desarrollo cerebral como para constituir un excelente modelo. Sin embargo, el siguiente problema a resolver no resultaba tan sencillo; es decir, conseguir el neonato prematuro de rata. Este hecho no resulta banal si se piensa que la gestación de la rata resulta casi catorce veces más corta que la de la mujer y, por consiguiente, los hechos ocurren tan extraordinariamente rápidos que pueden escaparse a la observación experimental.

Afortunadamente, después de infructuosos ensayos pudimos encontrar el momento adecuado en que, interrumpida la gestación, se da a luz un neonato prematuro de rata (2,7). El momento preciso fue el resultado del equilibrio entre la similitud metabólica y los escasos datos bibliográficos disponibles de neonatos humanos y la viabilidad postnatal. Más tarde, el modelo se perfeccionó (28,38) de tal manera que mimetiza con extraordinaria fidelidad todo aquello que conocemos ocurre en el recién nacido prematuro de la especie humana.

1.- PREMATURIDAD Y MORTALIDAD POSTNATAL

Con el perfeccionamiento del manejo y cuidado del neonato prematuro ha disminuído considerablemente la incidencia de la mortalidad en este grupo de

neonatos. Sin embargo, los neonatos prematuros siguen constituyendo, aún hoy, un grupo de alto riesgo de mortalidad postnatal. En este sentido, resulta dificil dar cifras comparables de mortalidad postnatal de prematuros, dado que sobre ellas inciden multitud de factores sociales. Consideramos, pues, muy interesante observar la mortalidad en nuestro modelo de prematuridad en rata, puesto que en él se obvian muchas de las subjetividades y modificaciones que inciden sobre los cálculos realizados en la especie humana.

En este sentido, la mortalidad postnatal del neonato maduro de rata es muy baja (Fig. 31), aunque significativa, en el momento del nacimiento, desapareciendo prácticamente una vez transcurrida la prelactancia (el comienzo de la lactancia en la rata ocurre 3-4 horas después del nacimiento). Sin embargo, los neonatos nacidos prematuramente (un día antes del término de la gestación, es decir a falta del 5% de la vida intrauterina), muestran una mortalidad en el momento del nacimiento mucho mayor (diez veces), cayendo paulatinamente conforme transcurren las primeras horas de vida extrauterina. A las 6 horas, es decir, una vez transcurrido el período de máxima peligrosidad, la mortalidad se reduce ostensiblemente.

Por consiguiente, el neonato prematuro presenta en el momento del nacimiento una mortalidad aproximadamente diez veces superior a la del neonato nacido a término. Sin embargo, pasadas las primeras seis horas, la mortalidad decrece drásticamente, lo que señala a la prelactancia como el período perinatal de mayor riesgo (ver capítulo anterior).

2.- HANDICAPS METABOLICOS DEL NEONATO PREMATURO

2.1.- Inmadurez endocrina del neonato prematuro

Es bien conocido que la insulina y el glucagón son las hormonas más importantes por lo que se refiere a la regulación endocrina del metabolismo, tanto en su faceta glucídica, como lipídica y protídica. Como sabemos, el par insulina/glucagón dirige el metabolismo, a la vez que constituye la señal para algunos de los cambios metabólicos que tienen lugar como respuesta a las variaciones de nuestro entorno.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, es lógico esperar que en la transición a la vida extrauterina ocurran cambios drásticos en la razón insulina/glucagón, con objeto de adecuar el metabolismo a la nueva situación del entorno. En efecto, inmediatamente tras el nacimiento la insulina, que permanecía a concentraciones muy altas en la sangre del feto (Figs. 19 y 32), comienza su caída paulatina hasta casi su total aclaramiento, hecho que tiene lugar dentro de la primera hora de vida extrauterina (6, 28). Por el contrario, el glucagón manifiesta un súbito aumento, alcanzando muy altas concentraciones durante las primeras horas de vida

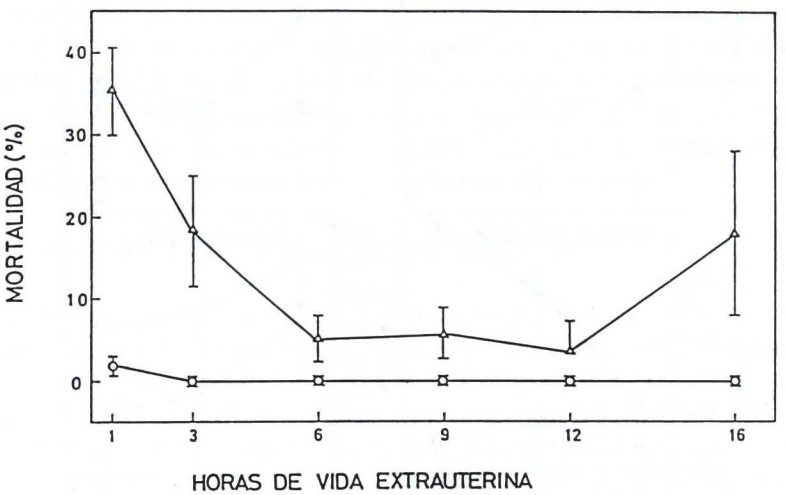


Figura 31.- Mortalidad postnatal de neonatos maduros (círculos) y prematuros (triángulos) durante las primeras horas de vida extrauterina.

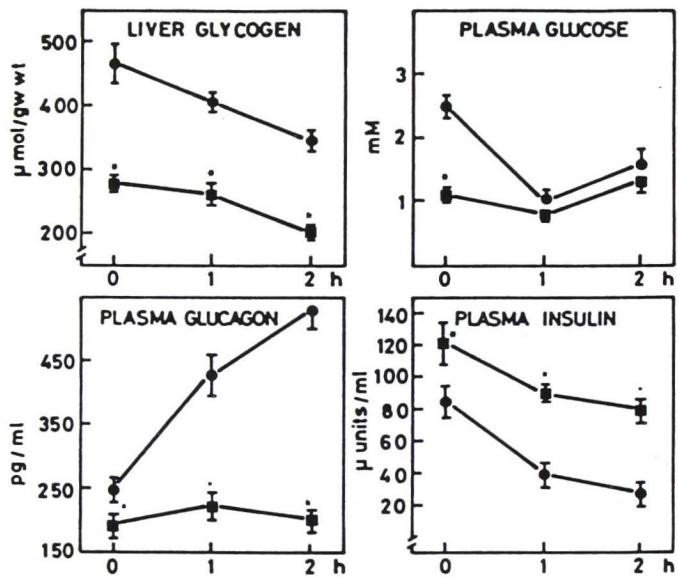


Figura 32.- Concentraciones de glucógeno hepático, glucosa, glucagón e insulina plasmática en neonatos maduros (círculos) y prematuros (cuadrados) durante las dos primeras horas de vida extrauterina.

extrauterina. Por consiguiente, en un corto período de tiempo la razón insulina/glucagón experimenta una subida extraordinaria (28). Naturalmente, los cambios metabólicos no se hacen esperar, la glucogenolisis hepática (Figs. 19 y 32) y muscular (30) se inducen y, más tarde, lo hace la gluconeogénesis (ver capítulo anterior). Todo ello sin descartar otros cambios en el metabolismo, que previsiblemente tienen lugar como consecuencia de la caída de la razón insulina/glucagón (ver más adelante).

Sin embargo, ninguno de estos cambios tienen lugar en el prematuro con la rapidez necesaria (ver más adelante). En efecto, el aclaramiento de la insulina fetal se retrasa considerablemente en el neonato prematuro (28), de tal manera que sus concentraciones son aún altas dos horas después del nacimiento (Fig. 32). Por otro lado, la secreción postnatal de glucagón es mínima en el neonato prematuro, al menos, por lo que se refiere a las dos primeras horas de vida extrauterina. Por consiguiente, la caída de la razón insulina/glucagón que tiene lugar en el neonato maduro se reduce considerablemente en el prematuro (28) lo que, como veremos, influirá decisivamente en el aumento de la vulnerabilidad metabólica del recién nacido prematuro.

2.2.- Indigencia glucídica del neonato prematuro.

Es bien conocido el hecho de que la glucosa no sólo es el sustrato de elección por la mayoría de los tejidos, sino que algunos de ellos (cerebro, eritrocitos, médula renal, gónadas, etc.) dependen estrictamente de la glucosa para su supervivencia. Sin embargo, dada la pobreza glucídica de la leche materna, el neonato depende durante toda la lactancia de sus fuentes endógenas de glucosa, es decir, de la glucogenolisis y de la gluconeogénesis. En efecto, durante la prelactancia la ausencia de aporte exógeno obliga a que la glucogenolisis sea la única fuente de glucosa. Más tarde, los escasos glúcidos lácteos y, sobre todo, los procedentes de la gluconeogénesis a partir de lactato, glicerol y aminoácidos, suministrarán a los tejidos neonatales la glucosa necesaria para su supervivencia.

En este sentido, nuestros resultados indican (Fig. 32; ref. 28) que el neonato prematuro posee, en el momento del nacimiento, aproximadamente el 60% de las reservas de glucógeno hepático observadas en el neonato maduro. Este hecho indica que el neonato prematuro se enfrenta a la vida extrauterina con, aproximadamente, la mitad de las reservas glucídicas que el neonato maduro. A esta considerable desventaja hay que sumar la bajísima velocidad glucogenolítica postnatal observada en el neonato prematuro (28; ver figura 32). En efecto, la velocidad glucogenolítica hepática es prácticamente nula en el neonato prematuro durante la primera hora de vida extrauterina. En otras palabras, las limitadísimas reservas de glucosa que posee el neonato prematuro en el momento del nacimiento, no comienzan a ser liberadas hasta pasadas las primeras horas de vida extrauterina.

Por consiguiente, las reservas energéticas del neonato prematuro, no sólo son muy inferiores a las necesarias, sino que, además, no pueden ser utilizadas en el momento oportuno. Posiblemente éste es uno de los principales hándicaps del neonato prematuro en el transcurso de su adaptación a la vida extrauterina.

Estos resultados son, asimismo, muy esperanzadores acerca de la validez de nuestro modelo experimental como aproximación al conocimiento del metabolismo del recién nacido prematuro de la especie humana. En este sentido, la similitud de estos resultados en rata con aquellos observados en recién nacidos humanos (Fig. 33) es extraordinaria.

En efecto, teniendo en cuenta la mayor duración de la gestación, el glucógeno se acumula en hígado de feto humano (Fig. 33) durante el mismo período de tiempo en que tiene lugar en la rata (Fig. 9), es decir, durante el último 10% de la gestación. Asimismo, inmediatamente tras el parto se inicia la glucogenolisis, agotandose las reservas glucídicas dentro de las primeras 20 horas. Más concretamente, al final de las diez primeras horas, la concentración de glucógeno en hígado es ya muy baja (Fig. 33), lo que indica claramente que el neonato humano también agota el glucógeno en las primeras horas de vida extrauterina. También como en nuestro modelo experimental (Fig. 32), el neonato prematuro humano presenta bajísimas concentraciones de glucógeno en el momento del nacimiento (Fig.33, inserto), lo que resulta en una situación de alta vulnerabilidad bioquímica. Como vemos, nuestro modelo experimental se asemeja extraordinariamente a la situación del neonato prematuro humano, lo que confirma la validez del modelo para el estudio de la situación real que, presumiblemente, tiene lugar en clínica.

Por otro lado, el retraso en la inducción de la glucogenolisis observado en el neonato prematuro está, posiblemente, condicionado por la ausencia de la secreción postnatal de glucagón observada en el neonato nacido a término (Fig. 32; ref. 28). Este hecho, unido al menor aclaramiento postnatal de la insulina plasmática observado en el neonato prematuro, explica por sí sólo la disminución de la velocidad glucogenolítica, ya que ésta última está relacionada directamente con la razón insulina/glucagón (6). Como hemos mencionado antes, la ausencia de respuesta del páncreas endocrino a la situación postnatal sugiere la existencia de cierta inmadurez pancreática, al menos por lo que se refiere al par insulina/glucagón. Este hecho puede tener mayores implicaciones metabólicas que las expuestas, puesto que el par insulina/glucagón dirige decisivamente el metabolismo energético (ver más adelante).

Inmediatamente tras el nacimiento, las necesidades de glucosa son tales que, aún en el neonato a término, la intensa glucogenolisis es incapaz de mantener la glucemia, apareciendo la denominada "hipoglucemia postnatal" típica del recién nacido. Pues bien, nuestros resultados indican (2, 24) que la hipoglucemia postnatal

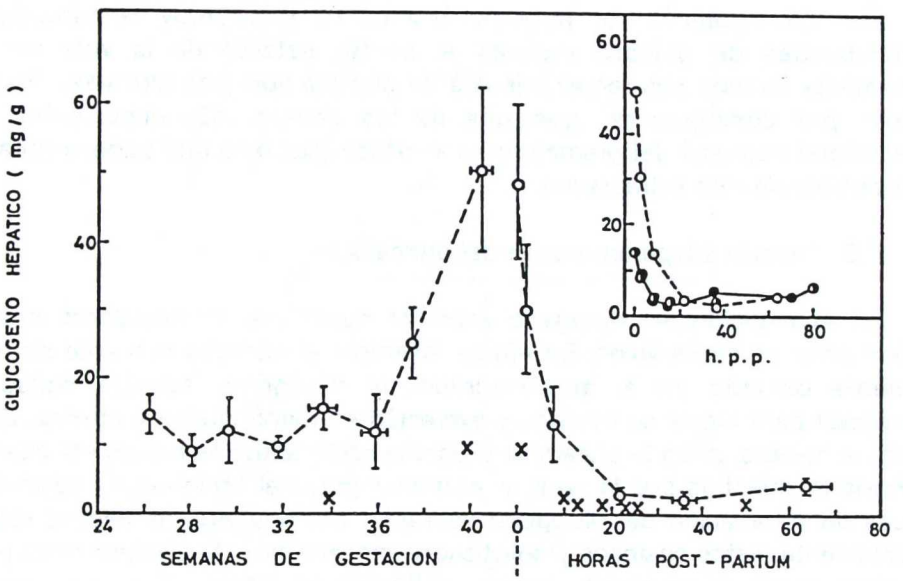


Figura 33.- Concentraciones de glucógeno en hígado de feto y recién nacidos humanos normales (-o-), prematuros (-●-) y de bajo peso (X). Para detalles experimentales ver Shelley, H.J. and Neligan, G.A.: Neonatal hipoglycaemia. Br. Med. Bull. 22, 34-39 (1966).

es mucho más prolongada en el neonato prematuro, hasta el punto de que la duración del período hipoglucémico se dobla en los neonatos nacidos prematuramente (Fig. 20). El responsable del retraso en la reaparición de la normoglucemia parece ser, indudablemente, la incapacidad del prematuro de poner en funcionamiento los mecanismos de síntesis de glucosa "de novo", es decir, la gluconeogénesis. En efecto, nuestros resultados (24, 26, 74) muestran la existencia de un considerable retraso en la inducción de las enzimas gluconeogénicas hepáticas y renales (Figuras 34 y 35), que da como resultado una disminución muy sustancial de la capacidad gluconeogénica del prematuro (Tabla XI).

Por consiguiente, el neonato prematuro tiene muy restringidas las disponibilidades de glucosa durante el primer estadio de la vida neonatal, precisamente cuando sus requerimientos de glucosa son más elevados. Podemos concluir, por consiguiente, que una de las causas más importantes de la vulnerabilidad neonatal del prematuro es el déficit glucídico que padece durante el primer período de vida extrauterina.

2.3.- Hipoxia e hiperamonemia del prematuro

La eliminación del nitrógeno sobrante constituye un verdadero problema logístico para los seres vivos. En efecto, mientras el carbono sobrante se elimina totalmente oxidado en el aire espirado, el nitrógeno requiere sofisticados mecanismos para lograr su traslado y excreción en forma inocua y atóxica. En este sentido, el hombre utiliza la glutamina y alanina como forma de transporte intertisular de nitrógeno, mientras que la urea -y en menor grado el ácido úrico-, como formas atóxicas de eliminación del nitrógeno sobrante. Sin embargo, el feto no requiere, aparentemente, estos costosos y sofisticados mecanismos de eliminar nitrógeno, ya que está rodeado de un medio acuoso, -el líquido amniótico-, en el que amortiguar los efectos tóxicos del amonio, el más sencillo de los derivados nitrogenados. Sin embargo, nuestros resultados (41) indican que el feto libera al líquido amniótico no sólo amonio, sino tambien glutamina, alanina y urea. Estos resultados indican que el feto tiene preparados, al menos en parte, los mecanismos bioquímicos de transformación del amonio en sustancias atóxicas (45).

Sin embargo, el neonato prematuro presenta una fuerte hiperamonemia postnatal (42), que no remite hasta pasadas varias horas tras el parto. Dado que el neonato prematuro padece hipoxia inmediatamente tras el nacimiento (38), intentamos encontrar una relación causa-efecto entre dichos fenómenos. Así, la hipoxia inhibe la ureogénesis (56), principal destino del amonio, lo que contribuiría al aumento de la amonemia. Sin embargo, la hipoxia experimental no produce hiperamonemia (49), lo que sugiere que la hipoxia no es la causa directa del aumento de las concentraciones de amonio en sangre. En efecto, existe una correlación lineal muy significativa entre la concentración de lactato, pH sanguíneo y

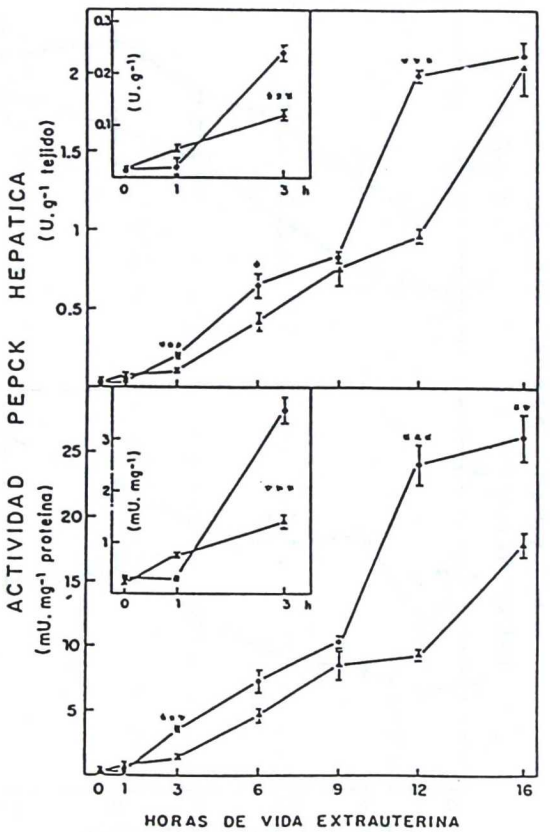


Figura 34.- Actividad de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa hepática en neonato maduro (-●-) y prematuro (-▲-) de rata durante las primeras horas de vida extrauterina.

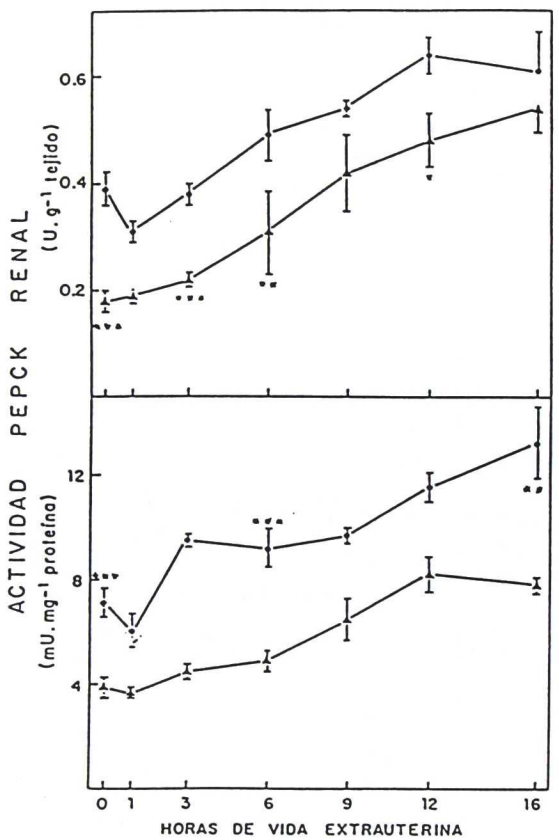


Figura 35.- Actividad de la fosfoenolpiruvato carboxicinasa renal en neonato maduro (-●-) y prematuro (-▲-) de rata durante las primeras horas de vida extrauterina.

Tabla XI.- Capacidad gluconeogénica a partir de lactato en neonatos maduros y prematuros durante las primeras horas de vida extrauterina (24).

Tiempo "post partum"	3 h		6 h	
	Maduros	Prematuros	Maduros	Prematuros
Velocidad de recambio de lactato, R (µmol/min por 100 g).	38.06 ± 1.96	42.72 ± 2.90	74.26 ± 8.22	48.18 ± 2.60*
Incorporación de lactato a glucosa, (µmol/min por 100 g)	6.52 ± 0.46	2.95 ± 0.07***	11.00 ± 0.25	9.45 ± 0.03**
Porcentaje de R incorporado en glucosa	17.34 ± 2.08	7.00 ± 0.61**	15.10 ± 1.32	18.23 ± 1.80

amonemia, (49) lo que sugiere que la acidosis es la responsable de la hiperanonemia, posiblemente, al inhibir el transporte de amonio al hígado para su posterior transformación en urea.

2.4.- Hipoxia e hiperlactiacidemia postnatal del neonato prematuro

Los trabajos realizados en nuestro laboratorio que permitieron el establecimiento del modelo de prematuridad en la rata (2, 3), sugerían la posibilidad de que el neonato prematuro sufriese durante la prelactancia un apreciable período de hipoxia. Para dilucidar esta posibilidad, estudiamos las concentraciones de oxígeno en sangre durante los primeros minutos de vida extrauterina (Fig. 36). Nuestros resultados (9, 23, 49) indican que el neonato prematuro sufre un retraso sustancial en la adquisición de las oxemias postnatales normales, es decir, las observables en el neonato maduro. Es más, la evolución postnatal de la oxemia en los neonatos maduros sometidos a hipoxia experimental (3,15,22), semeja extraordinariamente a la observada en los prematuros. Por consiguiente, estos resultados sugieren que los tejidos del neonato prematuro sufren una hipoxia transitoria durante, al menos, dos horas después del nacimiento.

A la vista de estos resultados, parecía evidente que la hipoxia postnatal del recién nacido prematuro debería influir desfavorablemente en su metabolismo oxidativo. Para poner a prueba esta hipótesis, -y ante las sospechas de que el metabolismo del lactato pudiera estar relacionado con las disponibilidades de oxígeno-, intentamos correlacionar matemáticamente las concentraciones de lactato y oxígeno en sangre de neonatos. Estos cálculos dieron como resultado la existencia de una relación inversa (Fig. 37), estadísticamente muy significativa, entre las concentraciones de lactato y oxígeno (9). De estos resultados se colige que el metabolismo del lactato plasmático depende muy estrictamente del oxígeno disponible. Este hecho es de una importancia extraordinaria, si pensamos que el prematuro es incapaz (al menos durante cierto período de tiempo) de utilizar lactato, uno de los sustratos neonatales más importantes durante las primeras horas de vida extrauterina (ver capítulo anterior). A esta indeseable situación tenemos que añadir la persistencia de la lactiacidemia postnatal con la consiguiente acidosis. Por consiguiente, el neonato prematuro no sólo es incapaz, durante la vida postnatal temprana, de utilizar lactato como fuente de energía y esqueletos carbonados, sino que, como consecuencia de ello, sufre la acidosis concomitante de la que pueden derivar secuelas patológicas (9, 12).

Para confirmar la influencia de la hipoxia en el metabolismo del lactato, sometimos a hipoxia experimental a neonatos maduros, con objeto de comprobar si su comportamiento metabólico mimetizaba al del recién nacido prematuro (23). Asimismo, intentábamos conocer las consecuencias de la hipoxia sobre el metabolismo neonatal, ya que es bien conocido el hecho de que gran parte de la

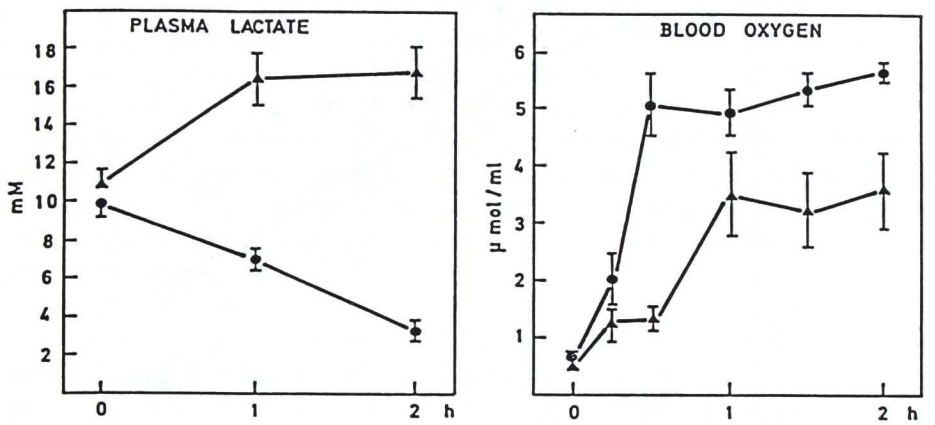


Figura 36.- Concentraciones de lactato y oxígeno en sangre de neonatos maduros (círculos) y prematuros (triángulos) durante las dos primeras horas de vida extrauterina.

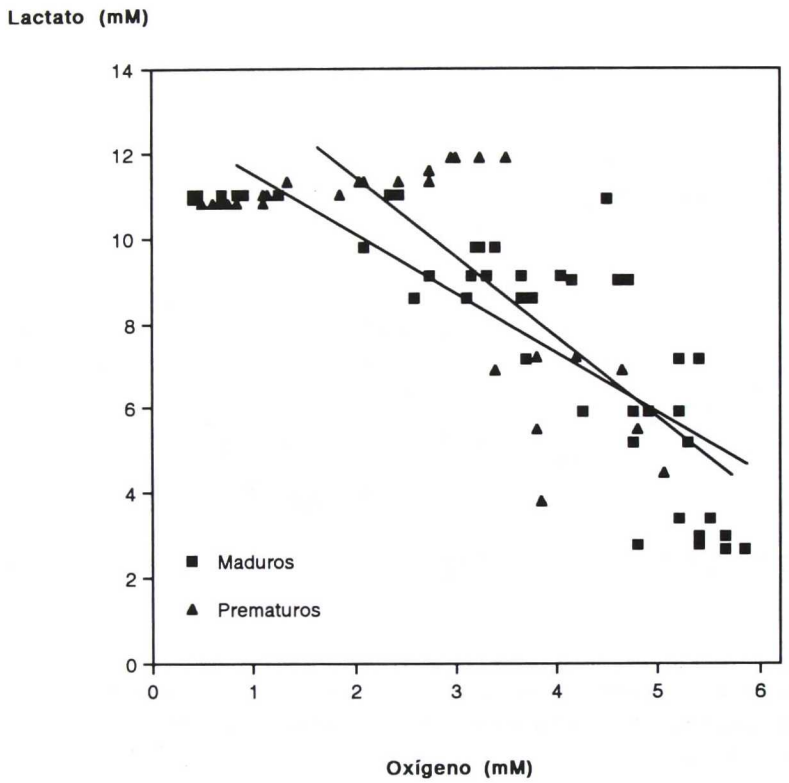


Figura 37.- Correlación lineal entre las concentraciones plasmáticas de lactato y oxígeno en neonatos maduros y prematuros. Línea inferior: $r = 0.8323$ ($p < 0.001$); Línea superior: $r = -0.8523$ ($p < 0.001$).

morbi-mortalidad neonatal es imputable a episodios de hipoxia sufridos durante o tras el parto.

Nuestros resultados (23, 72, 76) confirman la relación existente entre la concentración de oxígeno en sangre y la desaparición del lactato plasmático (Fig. 38), poniendo de manifiesto que la hipoxia postnatal produce elevadísimas lactiacidemias acompañadas de acidosis (72, 76). La hipoxemia, consecuencia de la hipoxia experimental, se detecta en hígado, donde se observa una drástica disminución de la razón de oxidorreducción citoplasmática (Fig. 39), así como de la carga energética (15; ver también ref. 7). Otro hecho muy importante, deducible de estos resultados (23, 76), es que la hipoxia inhibe, asimismo, la utilización de glucosa en estas circunstancias (Fig. 38). Este resultado confirma nuestra hipótesis de que la utilización de glucosa está inhibida en el neonato prematuro durante las primeras horas de vida extrauterina. En este sentido, es necesario resaltar que la fuerte hipoglucemia presente en el neonato prematuro, no permite detectar cambios estadísticamente significativos relacionados con el episodio hipóxico. Por consiguiente, de confirmarse que la hipoxia postnatal del prematuro también inhibe la utilización de glucosa, tendríamos que considerar la situación postnatal del prematuro como de alta vulnerabilidad metabólica en la que el recién nacido no sólo posee reservas energéticas insuficientes, sino que difícilmente puede utilizar los sustratos disponibles.

Por último, debemos recordar la importancia del lactato como sustrato neonatal (1, 33, 50, 67). En efecto, el feto durante el último período de la gestación acumula una considerable cantidad de lactato en plasma, probablemente como consecuencia de la fuerte anaerobiosis sufrida por los tejidos fetales. Es asombroso, pues, constatar que la enorme cantidad de lactato acumulado se utiliza rápidamente durante las primeras horas de vida extrauterina (Fig. 23). Es más, como tuvimos ocasión de demostrar en su momento (4), la mayor parte del lactato desaparecido es utilizado por vía oxidativa, resultando en el $C0_2$ espirado (Tabla X). En otras palabras, el lactato se consume rápidamente tras el parto, utilizando el oxígeno suministrado por el establecimiento de la ventilación pulmonar. Por consiguiente, la importancia del lactato como metabolito energético del neonato es evidente, no sólo por la cantidad y velocidad con que se consume, sino, muy decisivamente, por la vía elegida, una vía exclusivamente energética. En este sentido, tenemos que recordar que durante la prelactancia el recién nacido dispone de escasísimos recursos y, en consecuencia, debe hacer uso de ellos por la vía más eficiente desde el punto de vista energético. Estos resultados resaltan a su vez la importancia del metabolismo oxidativo durante el período neonatal temprano, descartando la idea de que el neonato "recuerda" durante cierto tiempo el metabolismo hipóxico fetal.

Sin embargo, la importancia del lactato como sustrato neonatal adquiere su verdadera dimensión al demostrarse que puede servir durante la prelactancia como

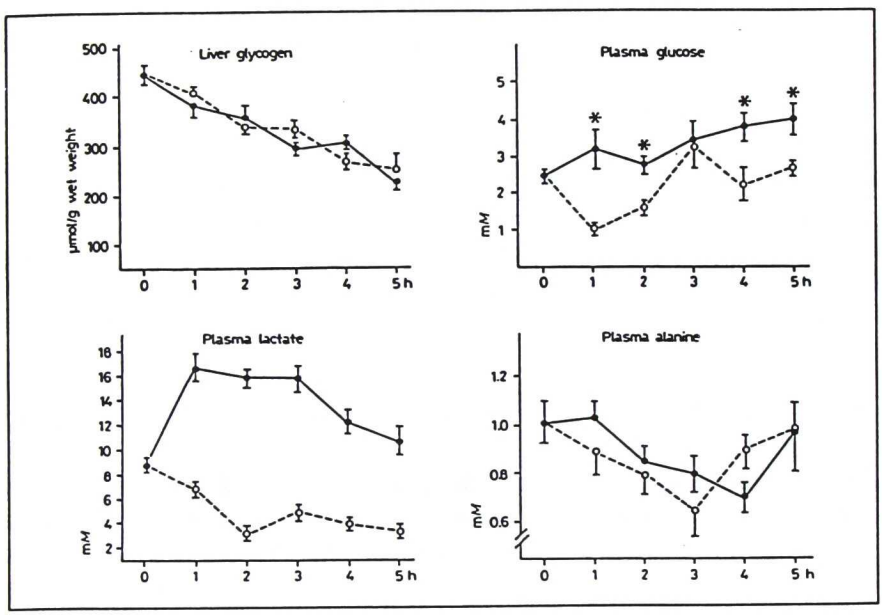


Figura 38.- Efecto de la hipoxia experimental en neonato maduro de rata *p < 0.0005 entre controles (-o-) e hipóxicos (-●-).

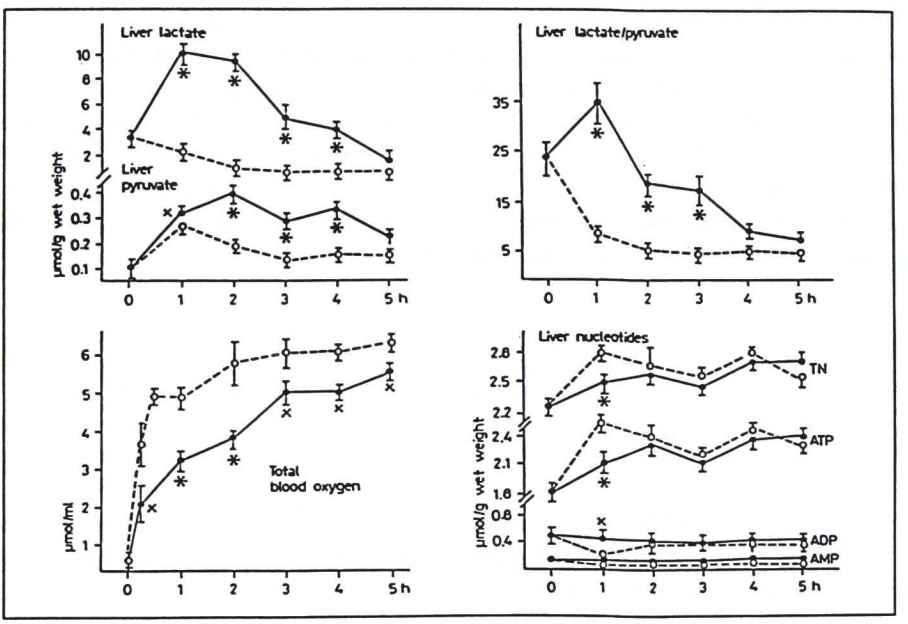


Figura 39.- Cambios en el estado redox celular como consecuencia de la hipoxia experimental en neonatos maduros de rata. x $p < 0.01$, *$p < 0.0005$ entre controles (-o-) e hipóxicos (-●-).

sustrato energético del cerebro. En este sentido, nuestros resultados (Fig. 25, 26; ref. 25, 35, 51, 61, 62, 64, 68) demuestran, sin lugar a dudas, que el cerebro consume lactato durante la vida neonatal temprana. Este hecho resulta de una importancia extraordinaria, si se piensa que el cerebro recibe poca glucosa tras la interrupción del suministro transplacentario. Es más, hasta el comienzo de la lactancia el cerebro del neonato carece de los sustratos alternativos a la glucosa, es decir, de los cuerpos cetónicos, ya que éstos proceden de la transformación de los ácidos grasos lácteos (ver el capítulo anterior). Por consiguiente, el lactato es el sustrato del cerebro, "puente" entre la glucosa materna y los cuerpos cetónicos, salvando el vacío de la transición a la vida extrauterina. Pues bien, nuestros resultados (25, 35, 51, 61, 62, 64, 68) demuestran que la utilización de lactato por el cerebro del neonato es muy sensible al suministro de oxígeno (Fig. 24). Por consiguiente, podemos afirmar que el cerebro del neonato prematuro dispondrá de escasa energía para su supervivencia, puesto que el sustrato disponible en mayor cantidad, es decir, el lactato, no podrá ser utilizado eficientemente. En efecto, el lactato no puede ser utilizado por el cerebro del prematuro al carecerse de las concentraciones de oxígeno necesarias (Fig. 34). Como vemos, los hándicaps metabólicos se van sumando hasta poner en peligro la propia superviciencia del neonato prematuro.

3.- REMISION DE LA HIPOXIA POR TRATAMIENTO MATERNO CON DEXAMETASONA

Desde que Liggins y Howie publicaron en 1972 su muy comentado artículo sobre el efecto del tratamiento "pre partum" con glucocorticoides para la prevención del distrés respiratorio del prematuro, se han enunciado diversas hipótesis para explicar el mecanismo de acción de los glucocorticoides en estas circunstancias. Sin embargo, la comprobación de esta hipótesis ha estado dificultada por las limitaciones metodológicas inherentes al trabajo clínico. Por esta razón, hemos querido abordar este problema en nuestro modelo experimental que, evidentemente, no tiene las limitaciones éticas y "logísticas" propias del trabajo clínico.

Por otro lado, nuestros resultados indicaban que el prematuro posee, en el momento del nacimiento, concentraciones de surfactante pulmonar muy inferiores a las observadas en el neonato maduro (38, 76; ver Fig. 4 y 16). En este sentido, la existencia de menores concentraciones de surfactante podría ser la causa de la hipoxemia encontrada en el neonato prematuro inmediatamente tras el parto (Fig. 36). Es más, la falta de surfactante pulmonar podría ser la responsable de la persistencia de la lactiacidemia en el prematuro ya que, como hemos visto anteriormente, las lactiacidemias están inversamente relacionadas con las oxemias. Todo ello explicaría la existencia de tan alta mortalidad postnatal observada en el

neonato prematuro durante las primeras horas de vida extrauterina (Fig. 31; ref. 74, 76).

Para poner a prueba esta hipótesis decidimos investigar, en primer lugar, la evolución postnatal de la $P0_2$, $PC0_2$, pH y concentración sanguínea de lactato en los neonatos maduros y prematuros (Fig. 40 y 41). Como puede observarse, estos resultados (38) confirman los anteriormente obtenidos en nuestro laboratorio (9), por lo que se refiere a la hipoxia que sufre el neonato prematuro de rata durante las primeras horas de vida extrauterina (Fig. 40). En efecto, el neonato prematuro no consigue remontar las bajas oxemias conseguidas durante los primeros 20 minutos, permaneciendo hipóxico durante, al menos, dos horas después del nacimiento.

Por lo que respecta a la hipercapnia que tiene lugar inmediatamente tras el parto (Fig. 40), el neonato prematuro se recupera más tarde, aunque con ligeras diferencias. Estos resultados, parecen indicar que la hipoxia postnatal del neonato prematuro puede estar relacionada con el déficit de surfactante pulmonar antes mencionado (Figs. 4 y 16). En efecto, una disminución del surfactante en la membrana alveolar desfavorecerá la adquisición de oxígeno, sin afectar, presumiblemente, a la liberación de $C0_2$ en favor de gradiente.

Por otro lado, la caída postnatal del pH es mayor en el neonato prematuro (Fig. 41), manteniéndose bajos pH durante más largo tiempo. Asimismo, la evolución del pH en ambos grupos de neonatos sigue un perfil inverso a la concentración sanguínea de lactato (Fig. 41), lo que sugiere que, dado que ambos están relacionados inversamente (38), la acidosis en ambos grupos de neonatos tiene un componente metabólico mayoritario.

Pues bien, el tratamiento materno con dexametasona remite absolutamente la hipoxemia postnatal del neonato prematuro, recuperando las concentraciones de oxígeno observadas en el neonato maduro (Fig. 40). Asimismo, el tratamiento materno con dexametasona adelanta la remisión de la hipercapnia en el neonato prematuro, semejando el perfil de la $PC0_2$ del prematuro a la del neonato maduro. Por consiguiente, podemos concluir que el tratamiento de la madre con dexametasona suprime uno de los principales hándicaps del neonato prematuro ,es decir, la hipoxemia postnatal. Como sabemos, éste es un hecho importantísimo en estas circunstancias, dado que el metabolismo oxidativo es vital durante las primeras horas de vida extrauterina. Por consiguiente, como hemos visto antes, la hipoxia sufrida por el neonato prematuro conduce a una paralización del metabolismo oxidativo, impidiendo la utilización de los principales sustratos metabólicos (ver capítulo anterior). En otras palabras, nuestros resultados sugieren que el tratamiento con dexametasona recupera el metabolismo oxidativo normal, consiguiendo que el neonato prematuro pueda comportarse de manera similar a como lo hace el neonato nacido a término.

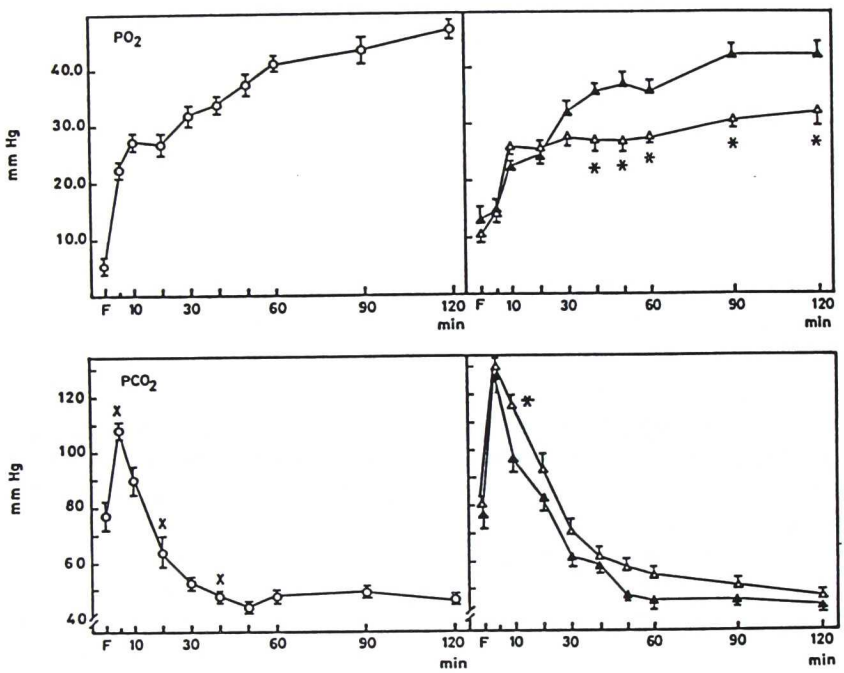


Figura 40.- Evolución de las presiones parciales de oxígeno y anhídrido carbónico en sangre de neonatos maduros (-o-), prematuros controles (-△-) y prematuros procedentes de madres tratadas con dexametasona (-▲-) durante las dos primeras horas de vida extrauterina; *p < 0.01 entre ambos grupos de neonatos prematuros; x p < 0.01 entre maduros y prematuros tratados.

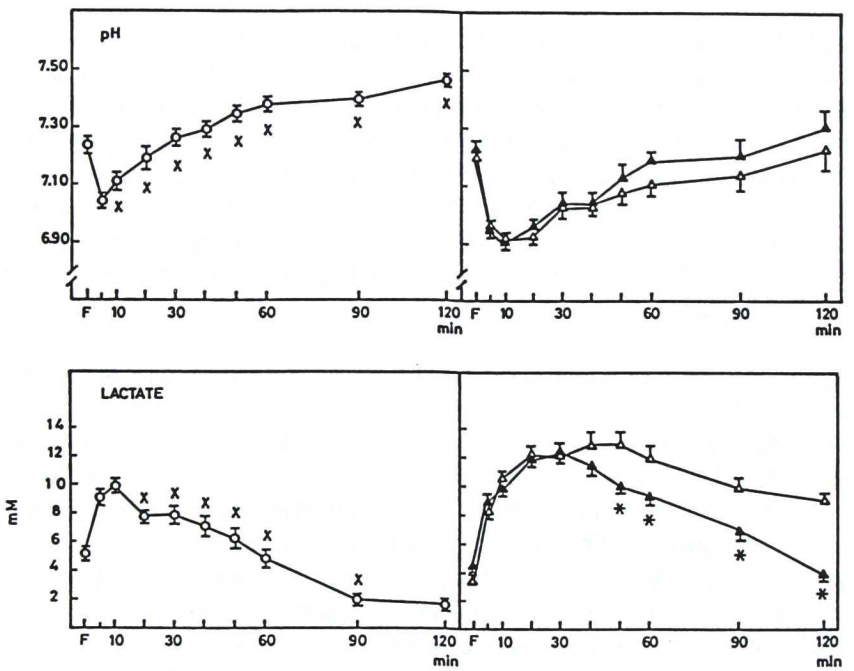


Figura 41.- pH y concentraciones de lactato en sangre de neonatos maduros (-o-), prematuros controles (-△-) y prematuros procedentes de madres tratadas con dexametasona (-▲-) durante las dos primeras horas de vida extrauterina (37). *p < 0.01 entre ambos grupos de neonatos prematuros. x p < 0.01 entre maduros y prematuros tratados.

En efecto, la hipoxemia típica del neonato prematuro (Fig. 40) se refleja en la inhibición de la remisión de la hiperlactiacidemia observada en el neonato maduro al final de la segunda hora de vida extrauterina. De hecho, la hiperlactiacidemia permanece en el recién nacido prematuro después de la segunda hora (Fig. 41). Pues bien, el tratamiento materno con dexametasona deja sentir su efecto en las concentraciones sanguíneas de lactato del neonato prematuro. En efecto, el tratamiento remite parcialmente la hiperlactiacidemia hasta alcanzar niveles similares a los observados en el neonato nacido a término.

En este sentido, hemos visto antes la importancia del lactato como sustrato cerebral, así como lo sensible que es su utilización a las concentraciones de oxígeno (ver capítulo anterior). Por consiguiente, el tratamiento con dexametasona mejora las posibilidades de la utilización del lactato por el cerebro, lo que singularmente contribuye a su éxito clínico en la prevención de las secuelas asociadas al distrés respiratorio del recién nacido prematuro. Podemos concluir, pues, que el tratamiento materno con dexametasona remite la hipoxia postnatal del recién nacido prematuro, lo que se refleja, muy decisivamente, en la mejora de la utilización de los sustratos metabólicos y, en especial, la del lactato.

Es importante que señalemos que el tratamiento materno con dexametasona, mientras que es capaz de remitir totalmente la hipoxia postnatal del neonato prematuro, no logra alcanzar los perfiles de lactiacidemia observados en el neonato maduro. En otras palabras, el tratamiento consigue recuperar la oxigenación normal de la sangre pero, aunque aumenta muy considerablemente la utilización del lactato plasmático, no consigue remitir totalmente la hiperlactiacidemia. Por consiguiente, estos resultados sugieren la existencia de otros factores además de los mencionados, en la utilización del lactato por los tejidos extracerebrales. En efecto, resultados obtenidos en nuestro laboratorio (46, 52) indican que, durante el último período de la gestación, ocurren cambios drásticos en los porcentajes de las diversas poblaciones mitocondriales hepáticas. En concreto, podemos afirmar que la población mitocondrial más activa comienza su crecimiento durante el último 5% de la gestación de la rata. Esto quiere decir que el neonato prematuro accede a la vida extrauterina con otras dos poblaciones mitocondriales mayoritarias que son ineficientes para el metabolismo oxidativo.

4.- PREMATURIDAD E INSUFICIENCIA DE SURFACTANTE PULMONAR

Es bien conocido que los mamíferos poseen "pulmones activos", es decir, pulmones que son responsables por sí mismos de la ventilación pulmonar. Esta ventajosa cualidad, frente a los inmóviles pulmones de las aves, conlleva la

servidumbre de su obligatoria plasticidad. En este sentido, los pulmones autoventilados deben poseer una membrana luminal especialmente diseñada. Así, no sólo debe extenderse y contraerse con una frecuencia determinada, sino que debe conservar durante la tensión y distensión, las cualidades propias de su papel como solución de continuidad entre un líquido, la sangre, y el aire que llena los alveolos.

Para solucionar este díficil problema, la membrana alveolar posee un conjunto de lípidos y proteínas denominado "surfactante". De los primeros, los más importantes son los fosfolípidos que, gracias a sus peculiares características químicas, disminuyen extraordinariamente la tensión superficial de la membrana alveolar. Así, la especial disposición de sus extremos zwiteroiónicos, en contraposición de las largas cadenas hidrófobas, aumenta la extensibilidad de la membrana luminal, aún conservando las cualidades idóneas para el transporte de oxígeno. Pues bien, la síntesis de los fosfolípidos del surfactante pulmonar tiene lugar durante el último período de la gestación (Figs. 2 y 4), concretamente durante el último 10% de la gestación. De estos resultados se deduce que el neonato prematuro accede a la vida extrauterina con menos dotación de surfactante (Figs. 4 y 16) que el neonato maduro, lo que, presumiblemente, debe afectar a la correcta adquisición de oxígeno en las estructuras alveolares.

En este sentido, nuestro modelo de prematuridad experimental se ha mostrado de indudable utilidad para demostrar la supuesta relación entre la hipoxia postnatal del neonato prematuro y su posible déficit en surfactante pulmonar. En efecto, dadas las escasas limitaciones metabólicas de nuestro modelo, hemos podido investigar las oxemias y el contenido en surfactante en las mismas condiciones experimentales, comprobando la existencia de hipoxia postnatal sólo en los neonatos que mostraron déficit de surfactante (Figs. 16 y 40). Es más, la remisión de la hipoxia postnatal del prematuro causada por el tratamiento materno con dexametasona, coincide con el aumento del contenido de surfactante pulmonar (Figs. 16 y 40), lo que parece indicar claramente, la existencia de una relación causa-efecto entre el déficit de surfactante y la hipoxia postnatal. En este sentido, es la primera vez que la mencionada relación entre hipoxia y déficit de surfactante ha podido ser demostrada, aunque los datos clínicos apuntaban a ella indudablemente. Se trata, pues, de la máxima aproximación experimental posible a la solución de un problema que ha preocupado durante décadas a los neonatólogos clínicos.

5.- OCLUSION DEL DUCTUS ARTERIOSO E HIPOXIA POSTNATAL

Cuando el ductus arterioso permanece abierto tras el nacimiento, se produce

el síndrome denominado "ductus arterioso patente", que cursa con dificultades respiratorias. En este sentido, algunos autores han sugerido que algunos de los trastornos postnatales del prematuro podían estar relacionados con la persistencia de un ductus arterioso funcional. Con este motivo, y con el de afrontar datos que mejoraran nuestro conocimiento sobre las consecuencias metabólicas del "ductus arterioso patente", decidimos investigar los cambios metabólicos que tuvieran lugar en el neonato como consecuencia de la permanencia de la viabilidad del ductus arterioso.

Dado que la oclusión del ductus arterioso ocurre tras la obliteración del cordón umbilical, decidimos diseñar un modelo en el cual el neonato no se separaba del cordón umbilical tras el nacimiento con lo que se conseguía que permaneciese abierto el ductus arterioso. La determinación de los parámetros bioquímicos en el mencionado modelo dio como resultado la constatación de la presencia de hipoxia en los neonatos que permanecieron unidos al cordón umbilical (48). Es más, la hipoxia cursa con hiperlactiacidemia, lo que demuestra que siempre que existe hipoxia se inhibe la utilización de lactato. Sin embargo, el perfil de la evolución de estos parámetros no es coincidente con el observado en los neonatos prematuros, lo que parece indicar que el retraso en la oclusión del ductus arterioso no es la causa de la hipoxia sufrida por el recién nacido prematuro.

6.- PREMATURIDAD Y DAÑO CEREBRAL

En los resultados resumidos en el presente trabajo subyace la existencia de una relación causa-efecto entre prematuridad y daño cerebral. Sin embargo, la sucesión de eventos bioquímicos que trascurre entre uno y otro es extraordinariamente compleja, lo que pone de manifiesto, que los fenómenos fisiológicos están siempre engarzados lógicamente aunque, a veces, el desconocimiento de un eslabon dé al traste con nuestros más sofisticados razonamientos. En el caso que nos ocupa, todo comienza aparentemente con la interrupción de la gestación antes de su término natural. El neonato se expone a los rigores fisicoquímicos de la vida extrauterina con importantes hándicaps bioquímicos. Por un lado, carece de suficientes reservas glucídicas, y las disponibles tardan en movilizarse a causa de la insuficiente secreción de glucagón y el tardío aclaramiento de la hiperinsulinemia fetal. Por otro, el parto prematuro interrumpe, en un momento crítico, la síntesis del surfactante pulmonar, componente alveolar esencial para la adquisición del oxígeno atmósférico. El resultado inevitable de este déficit en surfactante es la hipoxia y la subsecuente hiperlactiacidemia. El lactato plasmático, que constituye una reserva energética importantísima durante los momentos que siguen al parto, no puede ser utilizado por falta de oxígeno. De esta manera, no sólo

persiste la acidosis y su posible morbilidad, sino que los tejidos neonatales se ven privados de su casi exclusivo sustrato en estas circunstancias, es decir, del lactato. Este hecho se ve agravado por la ausencia de sustratos alternativos pues, como hemos mencionado, las disponibilidades de glucosa están muy restringidas. En otras circunstancias se tomarían medidas para presevar al cerebro de este déficit energético. Sin embargo, el lactato, que constituye el principal sustrato del cerebro en circunstancias normales, no puede ser utilizado como fuente de energía, dada la falta de oxígeno. Presumiblemente, el metabolismo cerebral queda paralizado, puesto que la hipoxia inhibe, casi absolutamente, la lipogénesis "de novo". Si la hipoxia continúa, una multitud de sucesos patológicos tendrán lugar inevitablemente, causando la fatal paralización de la maquinaria metabólica. Pero aún si la oxigenación artificial o la propia naturaleza consiguen vencer las dificultades más importantes, restableciéndose paulatinamente la normalidad metabólica, aún en esta afortunada eventualidad, las estructuras cerebrales omitidas no podrán ser sintetizadas y, menos aún, ensambladas "ex novo". Esta es la gran servidumbre del desarrollo cerebral: su casi absoluta irreversibilidad.

REFERENCIAS DE LOS TRABAJOS

(por orden cronológico :1978-1992)

1.- "Utilización de lactato durante el período neonatal". J.M. Medina. **Anales de la Real Academia de Farmacia 44, 545-560 (1978).**

2.- "Prematurity in the rat: I. Fuels and gluconeogenic enzymes". J.M. Cuezva, F.J. Moreno, J.M. Medina y F. Mayor. **Biology of the Neonate 37, 88-95 (1980).**

3.- "Prematurity in the rat: II. Effect of hypotermia". J. M. Cuezva, M. Benito, F.J. Moreno y J.M. Medina. **Biology of the Neonate 37, 218-223 (1980).**

4.- -"Non-gluconeogenic fate of lactate during the early neonatal period in the rat". J.M. Medina, J.M.Cuezva y F. Mayor. **FEBS Letters 114, 132-134 (1980).**

5.- "Effect of glucose administration on rat liver glycogenolysis after birth". M. Benito, A. Martín y J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 8, 593-594 (1980).**

6.- "Regulation of glycogenolysis in the liver of the newborn rat *in vivo*. Inhibitory effect of glucose". A. Martín, T. Caldés, M. Benito y J.M. Medina. **Biochimica et Biophysica Acta 672, 262-267 (1981).**

7.- "Prematurity in the rat. III Effect of oxygen supply". J.M. Cuezva y J.M. Medina. **Biology of the Neonate 39, 70-77 (1981).**

8.- "Ketogenesis in isolated hepatocytes from pregnant rats during the last stage of gestation".P. Rosario, M. Benito y J.M.Medina. **Ciencia Biologica 6, 159-161 (1981) .**

9.- "Blood oxygen concentrations in premature newborn rats during the early neonatal period". J.M. Cuezva, F.J. Moreno y J.M. Medina. **IRCS Medical Science 9, 644 (1981).**

10.-"Lipogenesis *in vivo* in maternal and fetal tissues during late gestation in the rat". M. Lorenzo, T. Caldés, M. Benito y J.M. Medina. **Biochemical Journal 198, 425-428, (1981).**

11.-"Effect of treatment with dexamethasone on energy requirements during the early neonatal period in premature rats". C. Arizmendi, M. Benito y J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 9, 391 (1981).**

12.-"Perinatal Biochemistry: The Premature Newborn". J.M. Medina, C. Arizmendi, M. Benito, J.M. Cuezva, F. Moreno y F. Mayor. **Pontificiae Academiae Scientiarum Scripta Varia 47, 11-13 (1981).**

13.-"Biochimica Perinatale: II Neonate Prematuro". J. M. Medina y otros. En : **"LA DEBILITA MENTALE. A CURA DI CARLO CHAGAS".** Capítulo II, pp. 27-41. Editora Edizioni Studium. Roma. 1981.

14.-"Stimulation of ketogenesis by propionate in isolated rat hepatocytes. An explanation for ketosis associated with propionic acidaemia and methymalonic acidaemia". P. Rosario y J.M. Medina. **Journal of Inherited Metabolic Diseases 5, 59-62 (1982).**

15.-"Adenine nucleotide concentrations in liver of fetal rats. Neonatal changes in the premature newborn". J.M. Cuezva y J.M. Medina, **Revista Española de Fisiología 38, 161-166 (1982).**

16.-"Metabolismo energético del neonato de rata durante las primeras horas de vida extrauterina". J.M. Medina. **Revista Española de Fisiología 38 supl. 221-228 (1982).**

17.-"Estudio *in vivo* de la lipogénesis y glucogenosíntesis en tejidos fetales de rata. Efecto de la dexametasona". M. Benito. M. Lorenzo y J.M. Medina. **Revista Española de Fisiología 38 supl. 237-242 (1982).**

18.-"Homeostasis energética del neonato prematuro lejano de rata". J.M. Cuezva, C. Arizmendi y J.M. Medina. **Revista Española de Fisiología 38 supl. 255-260 (1982).**

19.-"Relation between lipogenesis and glycogen synthesis in maternal and foetal tissues during late gestation in the rat: Effect of dexamethasone". M. Benito, M. Lorenzo y J.M. Medina. **Biochemical Journal 204, 865-868 (1982).**

20.-"Role of prolactin on the regulation of hepatic lipogenesis *in vivo* during late gestation in the rat". M. Benito, M. Lorenzo y J.M. Medina. **Hormone and Metabolic Research 11, 614-615 (1982).**

21.-"Lipogenesis *in vivo* in maternal and fetal tissues during late gestation in starved rats". M. Lorenzo, M. Benito y J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 10, 369 (1982).**

22.-"Isoenzymes of lactate dehydrogenase in fetal rat liver. Their correlation with blood oxygen concentrations". C. Arizmendi, J.M. Cuezva y J.M. Medina. **Enzyme 29, 66-70 (1983).**

23.-"Effect of postnatal hypoxia on the energy homeostasis of the newborn rat during the early neonatal period". C. Arizmendi, M. Maties, M. Benito y J.M. Medina. **Biology of the Neonate 44, 36-41 (1983).**

24.-"Postnatal hypoglycaemia and gluconeogenesis in the newborn rat. Delayed onset of gluconeogenesis in prematurely delivery newborns". E. Fernández, C. Valcarce, J.M. Cuezva y J.M. Medina. **Biochemical Journal 214, 525-532 (1983).**

25.-"Lactate as oxidizable substrate for rat brain *in vitro* during the perinatal period". C. Arizmendi y J.M. Medina. **Biochemical Journal 214, 633-635 (1983).**

26.-"The role of ATP/ADP ratio in the control of hepatic gluconeogenesis during the early neonatal period". J.M. Cuezva, E. Fernández, C. Valcarce y J.M. Medina. **Biochimica et Biophysica Acta 759, 282-295 (1983).**

27.-"Regulation of lipogenesis *in vivo* by glucose availability and insulin secretion in maternal and foetal tissues during late gestation in the rat. Effect of glucose incubation, streptozotocin-induced diabetes and starvation". M. Lorenzo, M. Benito, T. Caldés y J.M. Medina. **Biochemical Journal 216, 695-699 (1983).**

28.-"Decreased glucose supply in the premature newborn rat and its relationship with glucagon/insulin ratio". C. Arizmendi, T. Caldés, M. Benito y J.M. Medina. **IRCS Medical Science 12, 592-593 (1984).**

29.-"Phosphoenolpyruvate carboxykinase activity in the kidney of pregnant rats during late gestation". C. Valcarce, J.M. Cuezva y J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 12, 789 (1984).**

30.-"Substrates availability for maintenance of energy homeostasis in the immediate postnatal period of the fasted newborn rat". J.M. Cuezva, C. Valcarce y J.M. Medina. in: **"The Physiological Development of the Fetus and Newborn" (C.T. Jones ed.) pp. 63-69. Academic Press. London. 1985.**

31.-"Destino del lactato plasmático en neonato prematuro de rata durante el período perinatal".J.M. Medina. En **"Homenaje al Prof. H.A. Krebs (Doctor Honoris Causa)". pp. 48-51. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Granada. Granada, 1985.**

32.-"Increased gluconeogenesis in the rat at term gestation". C. Valcarce, J.M. Cuezva y J.M. Medina. **Life Sciences 37, 553-560 (1985).**

33.-"The role of lactate as an energy substrate for the brain during the early neonatal period". J.M. Medina. **Biology of the Neonate 48, 237-244 (1985).**

34.-"El neonato prematuro de rata como modelo para el estudio de la etiología molecular de la prematuridad". J. M. Medina. pp. 1-38. Editado por la Fundación Ramón Areces. Madrid, 1985.

35.-"Lactate utilization by the neonatal brain *in vitro*. Competition with glucose and 3-hydroxybutyrate". E. Fernández y J.M. Medina, **Biochemical Journal 234, 489-492 (1986).**

36. -"Regulación del metabolismo lipídico durante el período perinatal". M. Benito, M. Lorenzo y J.M. Medina. En: **Resúmenes del Simposio "Bioquímica Perinatal" XI Congreso de la SEB. Tenerife, Septiembre 1984. Publicado en 1986.**

37.-"Hipoglucemia postnatal y gluconeogénesis en el recién nacido". J.M. Cuezva y J.M. Medina. En: **Resúmenes del Simposio "Bioquímica Perinatal" XI Congreso de la SEB. Tenerife, Septiembre 1984. Publicado en 1986.**

38.-"Attenuation of postnatal hypoxia in the premature newborn rat by maternal treatment with dexamethasone. Its relationship with lung phospholipid concentrations". M.C. Juanes, C. Arizmendi y J.M. Medina. **Biology of the Neonate 50, 337-344 (1986).**

39.-"Homeostasis energética perinatal. Adaptación metabólica a la vida extrauterina". J. M. Medina. En: **"BIOQUIMICA PERINATAL"**. pp. 125-152. Editado por la Fundación Ramón Areces. Madrid, 1986.

40.-"Bioquímica Perinatal". F. Mayor, J.M. Cuezva y J.M. Medina. En: **BIOQUIMICA Y BIOLOGIA MOLECULAR . TEMAS DE ACTUALIDAD PARA GRADUADOS"** (S. Ochoa, L.F. Leloir, J. Oró y A. Sols, eds.) pp. 208-218. Salvat Editores. Barcelona, 1986.

41.- "Maternal-fetal relationship in ammonia metabolism during late gestation in the rat". M. V. García, J. Martín-Barrientos y J.M. Medina. **Biology of the Neonate 53, 315-320 (1988).**

42.- "Hyperammonemia in the premature newborn rat: its association with lactic acidosis". M.C. Rodríguez-Figueroa, M.V. García, J. Martín-Barrientos y J.M. Medina. **Medical Science Research 16, 701-702 (1988).**

43.-"Homeostasis energética perinatal. Adaptación metabólica a la vida extrauterina". J. M. Medina. En: **"BIOQUIMICA PERINATAL (Aspectos básicos y patológicos)"**. pp.199-226. Editorial Ceura-Madrid. Madrid,1988.

44.- "Bases moleculares de la prematuridad". J.M. Medina. En: **"BIOQUIMICA PERINATAL (Aspectos básicos y patológicos)"**. pp.833-856. Editorial Ceura-Madrid. Madrid,1988.

45.- "Ammonia metabolism during the suckling period in the rat". M.V. García, J. Martín-Barrientos y J.M. Medina. **Comparative Biochemistry and Physiology 93A, 597-600 (1989).**

46.-"Identification by flow cytometry of two distinct rhodamine-123-stained mitochondrial populations in rat liver".C.López-Mediavilla, A. Orfao, M. Gonzalez y J.M.Medina. **FEBS Letters 254, 115-120 (1989)**

47.- "Cambios metabólicos y nutrición durante el período perinatal". J.M. Medina. En: **Libro de Ponencias de la XI Reunión de Medicina Perinatal. Workshop:"Adaptación metábolico-energética perinatal'** (Bayés, R., Campoy, C., Molina, J.A. y Morán, J., eds.) Milupa S.A. Valdemoro-Madrid, 1989 (ISBN :84-404-5575-5)

48.- " Metabolic effects of the delay in obliteration of the umbilical cord in the newborn rat". L. Arranz, M.A. Ruiz, E. Fernández y J.M. Medina. **Biology of the Neonate 57, 46-53 (1990).**

49.- "Effect of postnatal hipoxia on ammonia metabolism during the early neonatal period in the rat". C. Vicario, M.C. Juanes, J. Martín-Barrientos y J.M. Medina. **Biology of the Neonate 57, 119-125 (1990).**

50.- "Fuel supply to the brain during the early postnatal period". J.M. Medina, E. Fernández, J.P. Bolaños, C. Vicario y C. Arizmendi. En: **"Endocrine and Biochemical Development of the Fetus and Neonate"**. (Cuezva, J.M., Pascual-Leone, A.M. and Patel, M.S. eds.), pp175-1942. Plenum Press. N.York, 1990.

51.-"Utilization of the main metabolic substrates by freshly isolated cells from the fetal rat brain". C. Vicario, C. Arizmendi y J.M. Medina. En: **"Endocrine and Biochemical Development of the Fetus and Neonate"**. (Cuezva, J.M., Pascual-Leone, A.M. and Patel, M.S. eds.), pp195-199. Plenum Press. N.York, 1990.

52.- "Development of rat liver mitochondrial populations during the perinatal period". C. López-Mediavilla y J.M.Medina **Biochemical Society Transactions 18, 552-553 (1990)**

53.- "Handicaps metabólicos en el neonato prematuro". J.M. Medina. En: **Libro de Ponencias de la XII Reunión de Medicina Perinatal. IIº Workshop:'Metabolismo, nutrición y alimentación del prematuro y recién nacido de bajo peso'** (Brines,J., Fons, J., Marco, V., Paredes, C. y Morán,J., eds.) ENE Ediciones S.A.Madrid, 1990 (ISBN :84-85395-3)

54.-"Inhibicion of sterol but not fatty acid synthesis by valproate in developing rat brain *in vivo*". J.P. Bolaños, J.M. Medina y D.H. Williamson. **Biochemical Journal 272, 251-253 (1990).**

55.- "Lactate utilization by neonatal rat liver *in vitro*" A. Almeida, J.P. Bolaños y J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 18, 1274-1275 (1990)**

56.-"Effect of hypoxia on urea synthesis in neonatal rat liver *in vitro*" J.P. Bolaños, E. Fernández and J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 18, 1284-1285 (1990)**

57.-"El lactato: Sustrato del cerebro en desarrollo". J.M. Medina. En: **Investigación en Ciencias Biomédicas** (García Marín, J.J., Serrano García, M.A., Rodríguez Martín, M.D., eds.) pp. 115-125. Ediciones Universidad de Salamanca ,**1991.**

58.-"Transporte de L-lactato en vesículas de membrana apical de trofoblasto de placenta de rata". S. Alonso de la Torre, M.A. Serrano y J.M. Medina. En: **Investigación en Ciencias Biomédicas** (García Marín, J.J.,Serrano García, M.A., Rodríguez Martín, M.D., eds.) pp.29-30. Ediciones Universidad de Salamanca ,**1991.**

59.-"Efecto del valproato sobre la utilización de lactato, glucosa, 3-hidroxibutirato y acetato en cerebro de neonato de rata". J.P. Bolaños y J.M. Medina. En: **Investigación en Ciencias Biomédicas** (García Marín, J.J.,Serrano García, M.A., Rodríguez Martín, M.D., eds.) pp 33-36 Ediciones Universidad de Salamanca, **1991.**

60.-"Metabolismo del ión amonio" J. Martín-Barrientos, C. Vicario, M.V. García y J.M. Medina. En: **Investigación en Ciencias Biomédicas** (García Marín, J.J.,Serrano García, M.A., Rodríguez Martín, M.D., eds.) pp 103-114. Ediciones Universidad de Salamanca, **1991.**

61.-"The fate of lactate in isolated cells from early neonatal rat brain. Comparison with glucose and 3-hydroxybutyrate". C. Vicario, J.P. Bolaños y J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 19, 141S (1991)**

62.-"Regulation of lipogenesis from lactate in isolated cells from early neonatal rat brain". C. Vicario, A. Tabernero y J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 19, 140S (1991)**

63.-"Carrier-mediated L-lactate transport in brush-border membrane vesicles from rat placenta during late gestation". S. Alonso de la Torre, M.A. Serrano, F. Alvarado y J.M. Medina. **Biochemical Journal 278, 535-541 (1991).**

64.-"Lactate utilization by isolated cells from early neonatal rat brain". C. Vicario, C. Arizmendi, G. Malloch, J.B. Clark y J.M. Medina. **Journal of Neurochemistry 57, 1700-1707 (1991).**

65.-"Bioquímica del Período de la Prelactancia". J.M. Medina. En: **XIII Reunión Anual de Medicina Perinatal. III Workshop Neonatal: "Alimentación del prematuro con leche humana. Necesidades de su suplementación".** (Doménech, E., Castro, R., Mández, A, Ormazábal C., Morán, J.,eds.) pp. 43-52. Ediciones Científicas y Técnicas, S.A., **1991**.

66.- "Proton gradient-dependent active transport of L-lactate in basal plasma membrane vesicles isolated from syncytiotrophoblast human placenta" S. Alonso de la Torre, M.A. Serrano, T. Caro-Patón y J.M. Medina. **Biochemical Society Transactions 19, 409S (1991).**

67.-"Ketogenesis from lactate in rat liver during perinatal period" A. Almeida, J.P. Bolaños y J.M. Medina **Pediatric Research 31, 415-418 (1992)**

68.- "Metabolism of lactate in the rat brain during the early neonatal period" C. Vicario y J.M. Medina. **Journal of Neurochemistry 58, 32-40 (1992)**

69.-"Biochemical adaptations to early extrauterine life". J.M. Medina, C. Vicario, M.C. Juanes y E. Fernadez. En: **Perinatal Biochemistry, Cap. 11, pp233-258, CRC Press, Inc., Boca Raton, FL, USA, 1992.**

70- "Carrier-mediated ß-hydroxybutyrate transport in brush-border membrane vesicles from rat placenta". S.R. Alonso de la Torre, M. A. Serrano t J.M. Medina. **Pediatric Research, 32,317-323 (1992).**

Tesis Doctorales

71.-J.M. Cuezva Marcos. "Efecto de la hipomadurez fetal en el mantenimiento de la homeostasis calórica neonatal". Diciembre 1978. Universidad Autónoma de Madrid. Sobresaliente "cum laude". **Premio Extraordinario.** Director: J. Mª Medina

72.-C. Arizmendi López. "Metabolismo energético del neonato prematuro de rata. Influencia de las disponibilidades de oxígeno". Mayo 1983. Universidad Complutense de Madrid. Sobresaliente "cum laude". Director: J. Mª Medina

73.- M. Lorenzo Balado. "Regulación de la síntesis lipídica durante el período perinatal en la rata". Mayo1984. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid.Sobresaliente "cum laude". Director: M. Benito.

74.-E. Fernández Sánchez. "Metabolismo del lactato en cerebro de neonato de rata". Diciembre 1987. Universidad de Salamanca. Apto "cum laude". **Premio Extraordinario.**Director: J. Mª Medina.

75.-C. López Mediavilla. "Desarrollo de las poblaciones mitocondriales de hígado de rata durante el periodo perinatal". Diciembre 1989. Universidad de Salamanca. Apto "cum laude". **Premio Extraordinario.** Director: J. Mª Medina

76.-M.C. Juanes de la Peña. "Dismadurez experimental en neonato de rata. Efecto de la hipoxia" Enero 1990. Universidad de Salamanca. Apto "cum laude". Director: J. Mª Medina.

77.- S.R. Alonso de la Torre. "Mecanismo de transferencia de metabolitos energéticos a través de la placenta de rata durante el desarrollo". Diciembre 1990. Apto "cum laude". **Premio Extraordinario.** Directores: J. Mª Medina y Mª Angeles Serrano.

78.- C.Vicario Abejón. "Regulación del metabolismo del lactato en células aisladas de cerebro de neonato de rata". Marzo 1991. Apto "cum laude". **Premio Extraordinario.** Directores: J. Mª Medina y Carmen Arizmendi.

79.- J.P. Bolaños. "Efecto del valproato sobre el metabolismo intermediario en cerebro de neonato de rata". Febrero 1992. Apto "cum laude". **Premio Extraordinario.** Director: J. Mª Medina.

Trabajos de Licenciatura (Tesinas)

80.-C. Arizmendi López. "Cambios en el perfil isoenzimático de la lactato deshidrogenasa hepática durante el período neonatal". Junio de 1979. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Sobresaliente. Director: J.Mª Medina

81.-A. Martín Gallardo. "Regulación de la glucogenolisis neonatal. Efecto permisivo de la glucosa". Marzo de 1980. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. Sobresaliente. Director: J.Mª Medina

82.-M. Lorenzo Balado."Capacidad lipogénica materno-fetal *in vivo* en el último período de la gestación y tras el parto, en la rata". 1980. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. Sobresaliente . Director: M. Benito.

83.-E. Fernández Sánchez. "La vía gluconeogénica durante el primer día de vida extrauterina en el recién nacido prematuro de rata". Julio de 1982. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. Notable. Directores: J.Mª Medina y J. M. Cuezva

84.-C. Valcarce López. "Aspectos metabólicos de la gestación. Capacidad gluconeogénica *in vivo* de la rata gestante". 1983. Facultad de Ciencias . Universidad Autónoma de Madrid. Sobresaliente. Director: J.M. Cuezva

85.-L. Arranz Bombín. "Efectos metabólicos del retraso de la obliteración del cordón umbilical en neonato de rata". Marzo de 1985. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Notable. Director: J.Mª Medina

86.-M. C. Rodríguez Figueroa. "Metabolismo del ión amonio en neonatos prematuros de rata durante el período perinatal". Marzo de 1985. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. **Premio Extraordinario.** Director: J.Mª Medina.

87.-S.R. Alonso de la Torre. "Aislamiento de vesículas de membrana de sincitiotrofoblasto de placenta de rata. Caracterización de sistemas de transporte para la L-alanina y la D-glucosa". Octubre de 1986. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Directores: J.Mª Medina y Mª A. Serrano

88.-M.A. Ruiz Hortelano. "Efectos metabólicos del tratamiento con indometacina en el período perinatal de la rata". Octubre de 1986. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Director: J.Mª Medina

89.-C. Vicario Abejón. "Efecto de la hipoxia experimental sobre el metabolismo del ión amonio en el neonato maduro de rata". Octubre de 1986. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Directores: J.Mª Medina y J. Martín Barrientos

90.-J. P. Bolaños Hernández. "Regulación de la ureogénesis en hígado de feto de rata i*n vitro* durante el último período de la gestación". Octubre de 1987. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. **Premio Extraordinario**. Director: J.Mª Medina.

91.-M. M. Calonge Delso. "Síntesis de alanina por placenta de rata *in vitro* ". Noviembre de 1988. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Directores: J.Mª Medina y J. Martín Barrientos.

92.-T. Caro-Patón Carmona. "Transporte de L-lactato en vesículas de membrana basal de sincitiotrofoblasto de placenta humana". Julio de 1989. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Directores: J.Mª Medina y Mª A. Serrano.

93.-M. M. Díaz Jara. "Desarrollo perinatal de actividades enzimáticas en células aisladas de cerebro de rata". Octubre 1989. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Directores: J.Mª Medina y C. Arizmendi

94.-M.A. Almeida Parra. "Utilización de lactato por el hígado de neonato de rata *in vitro*". Octubre 1989. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Director: J.Mª Medina .

95.-A. I. Flores de la Cal. "Caracterización del transporte de L-serina en vesículas de membrana apical de trofoblasto de placenta de rata". Noviembre1990. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Directores: J.Mª Medina y Mª A. Serrano.

96.-N. Palacios del Valle. "Producción de glutamato por placenta de rata *in vitro*" Noviembre 1990. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Sobresaliente. Directores: J.Mª Medina y J. Martín Barrientos

97.- R. Hernandez Berciano. "Desarrollo de las poblaciones mitocondriales en cultivos primarios de hepatocitos de rata" Julio 1991. Facultad de Farmacia. Universidad de Salamanca. Apto "cum laude". Directores: J.Mª Medina y Mª V. García.

El Programa de Acción Mundial para las Personas con Discapacidad, de Naciones Unidas, alienta la investigación «orientada a prevenir las causas de la deficiencia». (Párrafo 192.a).

«La diferencia existente entre los países industrializados y los países en desarrollo no debe obstar a una colaboración fructífera, ya que gran parte de los problemas interesan a todo el mundo». (Párrafo 191).

MINISTERIO DE ASUNTOS SOCIALES