

EL NEONATO PREMATURO DE RATA COMO MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA ETIOLOGIA MOLECULAR DE LA PREMATURIDAD

Prof. JOSE M.^a MEDINA JIMENEZ



Fundación Ramón Areces

**EL NEONATO PREMATURO DE RATA
COMO MODELO PARA EL ESTUDIO
DE LA ETIOLOGIA MOLECULAR
DE LA PREMATURIDAD**

Prof. JOSE M.^a MEDINA JIMENEZ

INDICE

	<u>Página</u>
INTRODUCCION.....	9
RESUMEN DE LOS RESULTADOS	13
1. Desarrollo materno-fetal. Bases moleculares de la pre- turidad	13
2. Homeostasis energética neonatal. Suministro de sustratos energéticos a los tejidos neonatales	23
3. Comportamiento metabólico del neonato prematuro. Inmadu- rez metabólica y vulnerabilidad postnatal.....	27
REFERENCIAS.....	36

Queremos mostrar nuestro agradecimiento a la Fundación Ramón Areces, que al subvencionar el presente trabajo no sólo nos ha permitido contribuir al progreso de la Bioquímica Perinatal, sino que ha servido, además, como punto de convergencia de nuestros objetivos comunes, creando entre nosotros un espíritu de colaboración científica realmente fructífero y duradero.

Queremos recordar, muy especialmente, al Profesor Federico Mayor Zaragoza, de cuyo entusiasmo y asesoramiento hemos aprendido a valorar el trabajo de investigación como una contribución a la mejora del nivel de bienestar del mundo que nos rodea.

El presente trabajo es el resultado del desarrollo de un proyecto de investigación que, financiado por la Fundación Ramón Areces, hemos realizado en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid durante los años 1981-1983. El grupo de trabajo encargado de llevar a cabo la realización del proyecto ha estado formado por las siguientes personas:

*José M.^a Medina Jiménez,
Investigador Principal del Proyecto,
Catedrático de Bioquímica.*

*Manuel Román Benito de las Heras,
Catedrático de Bioquímica.*

*José Manuel Cuezva Marsos,
Profesor Titular de Bioquímica.*

*Josefa Predestinación García Ruiz,
Profesora Titular de Bioquímica.*

*Carmen Arizmendi López,
Profesora Titular Interina de Bioquímica.*

*Margarita Lorenzo Balado,
Profesora Ayudante de Clases Prácticas.*

*Carmen Valcarce López,
Profesora Ayudante de Clases Prácticas.*

*Margarita Chamorro Bello,
Ayudante de Investigación del C.S.I.C.*

INTRODUCCION

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. En segundo lugar, 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 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 parámetro 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, necesitamos buscar un sustrato lipogénico que, por sus características químicas, no pertur-

bara 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.

Gracias a la utilización de este método hemos podido determinar *in vivo* la velocidad lipogénica del pulmón fetal como índice de la síntesis del surfactante pulmonar, la velocidad de la lipogénesis cerebral del feto durante el último período de la gestación (y su absoluta independencia de las circunstancias nutricionales de la madre)..., etc. Este sistema nos ha permitido, además, el conocimiento de las prioridades materno-fetales en cada situación metabólica, hasta el punto de indicarnos que, por ejemplo, la lipogénesis hepática fetal cede absolutamente su protagonismo en favor de la síntesis de glucógeno, dado que éste va a constituir la principal reserva glucídica durante los primeros momentos de la vida extrauterina (ver «Resumen de los resultados»).

Otro de nuestros objetivos ha consistido en aportar datos que nos permitan conocer con mayor profundidad la homeostasis energética del recién nacido. 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.

A las dificultades antes mencionadas hay que añadir las consecuencias metabólicas resultado de la hipoxia postnatal observada en el neonato prematuro. En efecto, hemos podido demostrar que el neonato prematuro padece hipoxia durante las primeras horas de vida extrauterina, hipoxia que retrasa considerablemente la llegada de oxígeno a los tejidos neonatales. Este hecho trae como consecuencia la inhibición del metabolismo oxidativo —muy desarrollado en el neonato maduro—, lo que sitúa al prematuro ante la necesidad de utilizar vías metabólicas anaerobias, obviamente, mucho menos eficientes. Es decir, el neonato prematuro no sólo dispone de menor cantidad de glucosa, sino que se ve obligado, además, a utilizarla mediante procesos veinte veces menos eficientes (la glucólisis anaerobia). Por otro lado, la hipoxia impide la utilización de sustratos que obligatoriamente requieren oxígeno para su consumo. Así, el neonato prematuro es incapaz de utilizar el lactato que ha acumulado en sangre durante el último período de la gestación. De hecho, el lactato —sustrato alternativo de la glucosa en estas circunstancias— se acumula en sangre, produciendo trastornos importantes, principalmente relacionados con la acidosis concomitante. Por consiguiente, a la imposibilidad de utilizar un sustrato energéticamente imprescindible hay que sumar la acidosis y sus posibles secuelas neurológicas.

De nuestros resultados debemos destacar muy especialmente aquellos en los que se demuestra que el lactato es un excelente sustrato energético para el cerebro durante la vida neonatal temprana. Es decir, que el cerebro del neonato, ante la escasez de glucosa, utiliza ácido láctico como sustrato energético alternativo. Este hecho tiene una importancia metabólica indudable, ya que señala al lactato como sustrato de un tejido tan exigente como el cerebro, y en unas circunstancias críticas del desarrollo. No olvidemos que el cerebro de rata (al igual que el de la especie humana) tiene un desarrollo principalmente postnatal. En otras palabras: el lactato es un sustrato importante de la mielinogénesis, contribuyendo decisivamente a la maduración cerebral.

El hecho de que el lactato sea sustrato del cerebro del neonato durante el primer estadio de la vida extrauterina, juega un papel esencial en la comprensión de la etiología de las posibles secuelas de la prematuridad. En efecto, nuestros resultados demuestran que el consumo de lactato del cerebro neonatal es muy sensible a las disponibilidades de oxígeno. Esto quiere decir que la hipoxia sufrida por el neonato prematuro durante las primeras horas de vida extrauterina retrasa el consumo cerebral de lactato, añadiendo un hándicap más al neonato prematuro en su adaptación a la vida extrauterina. En resumen: debido a la falta de oxígeno, los tejidos del neonato prematuro se ven imposibilitados para el consumo de lactato, lo que alarga considerablemente la permanencia de la acidosis postnatal. Sin embargo, a las consecuencias de la acidosis hay que añadir la precariedad energética de los tejidos neonatales, especialmente la del cerebro, que dispone de una limitada cantidad de glucosa y no puede utilizar el sustrato alternativo, es decir, el ácido láctico.

Como complemento muy importante de nuestro trabajo, hemos querido investigar los cambios ocasionados en el metabolismo materno-fetal como consecuencia del tratamiento de la gestante por glucocorticoides; es decir, uno de los tratamientos clínicos utilizados para la prevención de la prematuridad. En este sentido, nuestros resultados demuestran que el tratamiento de la gestante con glucocorticoides mejora el estado general de oxigenación de los tejidos del prematuro, puesto que los neonatos muestran las hipoxemias e hiperlactiacidemias normales en el neonato maduro. Este hecho coincide con el aumento de las concentraciones de fosfolípidos del surfactante pulmonar. Es decir, de acuerdo con nuestros resultados, el tratamiento se muestra capaz de suprimir la hipoxia postnatal del prematuro, desinhibiendo el metabolismo oxidativo.

Asimismo, el tratamiento de la gestante con glucocorticoides produce, en nuestro modelo experimental, una disminución extraordinaria de la mortalidad postnatal, así como la aparición de microsomía. Estos resultados indican claramente que nuestro modelo mimetiza los resultados clínicos del tratamiento, permitiéndonos estudiar los efectos beneficiosos de los corticoides. En este sentido, nuestros resultados demuestran que el tratamiento de la gestante con glucocorticoides aumenta extraordinariamente el contenido del glucógeno fetal, alcanzándose en el prematuro los niveles normales de neonato a término. Asimismo, la velocidad de la glucogenolisis hepática postnatal es absolutamente normal en el neonato prematuro procedente de madres tratadas. Por consiguiente, gracias al tratamiento, el neonato prematuro dispone en el momento del nacimiento de las reservas glucídicas necesarias y de los mecanismos para poner a disposición de los tejidos la glucosa almacenada. En resumen: el tratamiento descarga al prematuro de uno de sus hándicaps, ya que, al hacerle poseedor de suficientes reservas, le permite sobrevivir al trance más comprometido.

La extrapolación de estos resultados al recién nacido humano no nos corresponde a nosotros. Deseamos profundamente que nuestras conclusiones sirvan para confirmar algunas observaciones clínicas y, esperanzadoramente, para diseñar nuevas conductas de manejo de la prematuridad.

RESUMEN DE LOS RESULTADOS

1. DESARROLLO MATERNO-FETAL. BASES MOLECULARES DE LA PREMATURIDAD

Uno de los principales objetivos del presente proyecto 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.

1.1. Metabolismo fetal durante el desarrollo

1.1.1. *Síntesis del surfactante pulmonar*

Es bien conocido el hecho de que los fosfolípidos son los principales componentes del surfactante pulmonar, y aquellos que por su carácter tensioactivo permiten la alta plasticidad característica de la membrana alveolar. Desde el punto de vista bioquímico, la síntesis de surfactante que tiene lugar durante el desarrollo ontogénico, presenta características muy destacadas. Así, se sintetiza principalmente durante el último período de la gestación (Fig. 1), con una velocidad tal que permite acumular una considerable cantidad de fosfolípidos en un corto período de tiempo (22). Por consiguiente, la lipogénesis pulmonar es muy activa durante el último período de la gestación. Por otro lado, el principal

FOSFOLÍPIDOS ($\mu\text{mol/gr}$)

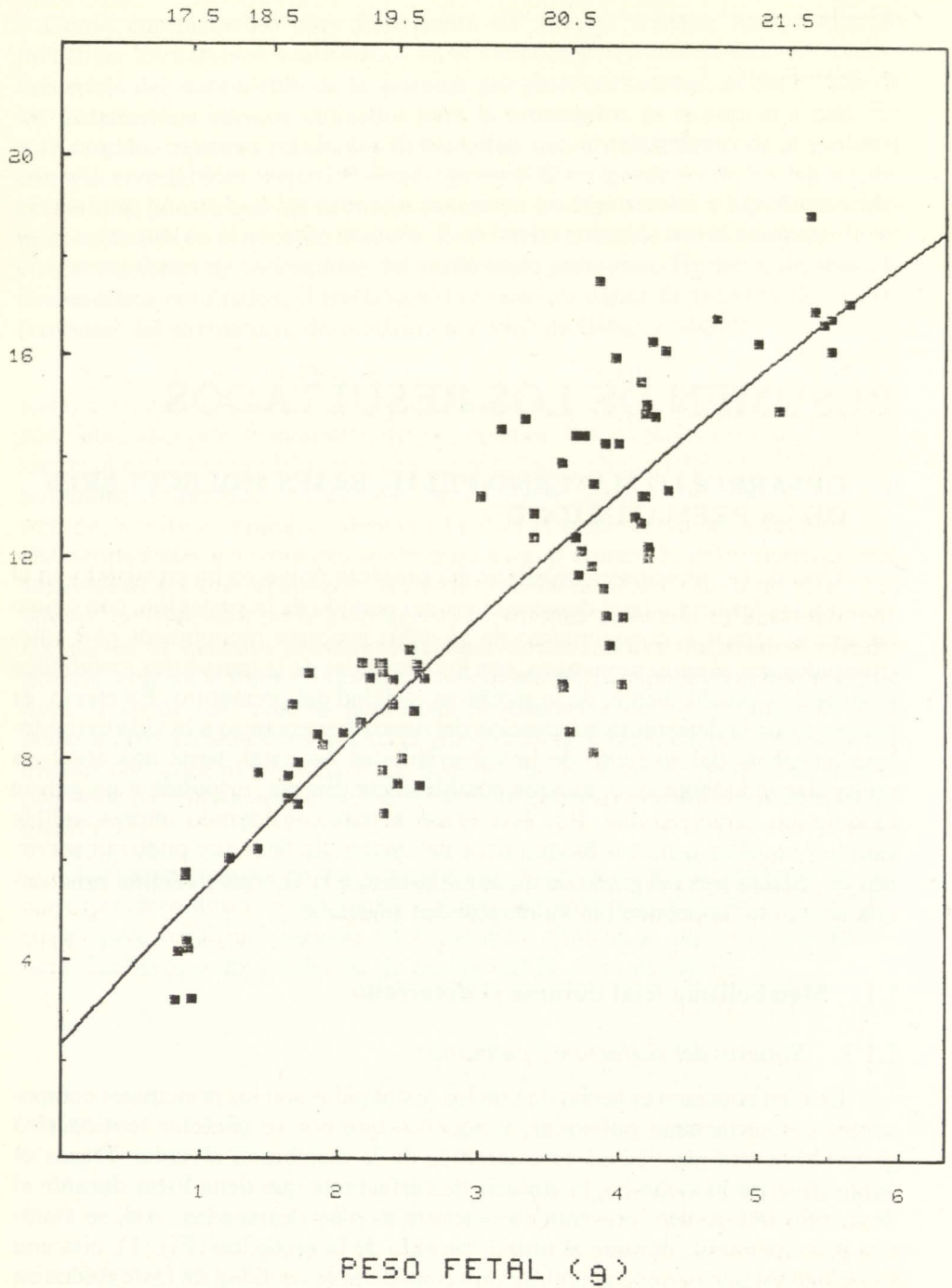


Figura 1. Ajuste realizado por computador de las concentraciones de fosfolípidos del surfactante pulmonar fetal durante los últimos días de la gestación en la rata (22).

precursor de los fosfolípidos componentes del surfactante es el glucógeno pulmonar, cuya síntesis y degradación (Fig. 2) está ajustada cronológicamente a las necesidades de síntesis del surfactante (22).

De acuerdo con estos hechos, nuestro trabajo ha consistido en el estudio de la lipogénesis y glucogenosíntesis pulmonar (9, 11, 23), así como de la glucogenólisis pulmonar *pre partum* (22). En este sentido, nuestros resultados indican que la síntesis de glucógeno pulmonar decrece muy significativamente durante los tres últimos días de la gestación (9, 11, 23), hasta ser casi impreceptible en las cercanías del parto (Fig. 2). 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 (9, 11, 23). Estos resultados son verdaderamente importantes si se piensa que nuestro diseño experimental permite medir, sin interferencias exógenas, la lipogénesis y 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. 1) revela que su acúmulo es paralelo a la lipogénesis total (11). 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 disminuirá la plasticidad de la membrana alveolar del prematuro.

1.1.2. Lipogénesis "de novo" en cerebro

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 (4) indican que la lipogénesis cerebral es sustancial durante el último período de la gestación, no sufriendo cambios significativos en las cercanías del parto.

1.1.3. Lipogénesis "de novo" en hígado

Por lo que respecta a la lipogénesis hepática, nuestros resultados indican que existe una drástica disminución de la velocidad lipogénica en hígado fetal conforme se acerca el parto. Estos resultados (4, 9, 11) sugieren que el hígado se prepara para el parto, puesto que inmediatamente tras él no dispondrá de sustratos lipogénicos. Sin embargo, como hemos visto antes, la lipogénesis pulmonar crece durante este tiempo (Fig. 1), 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

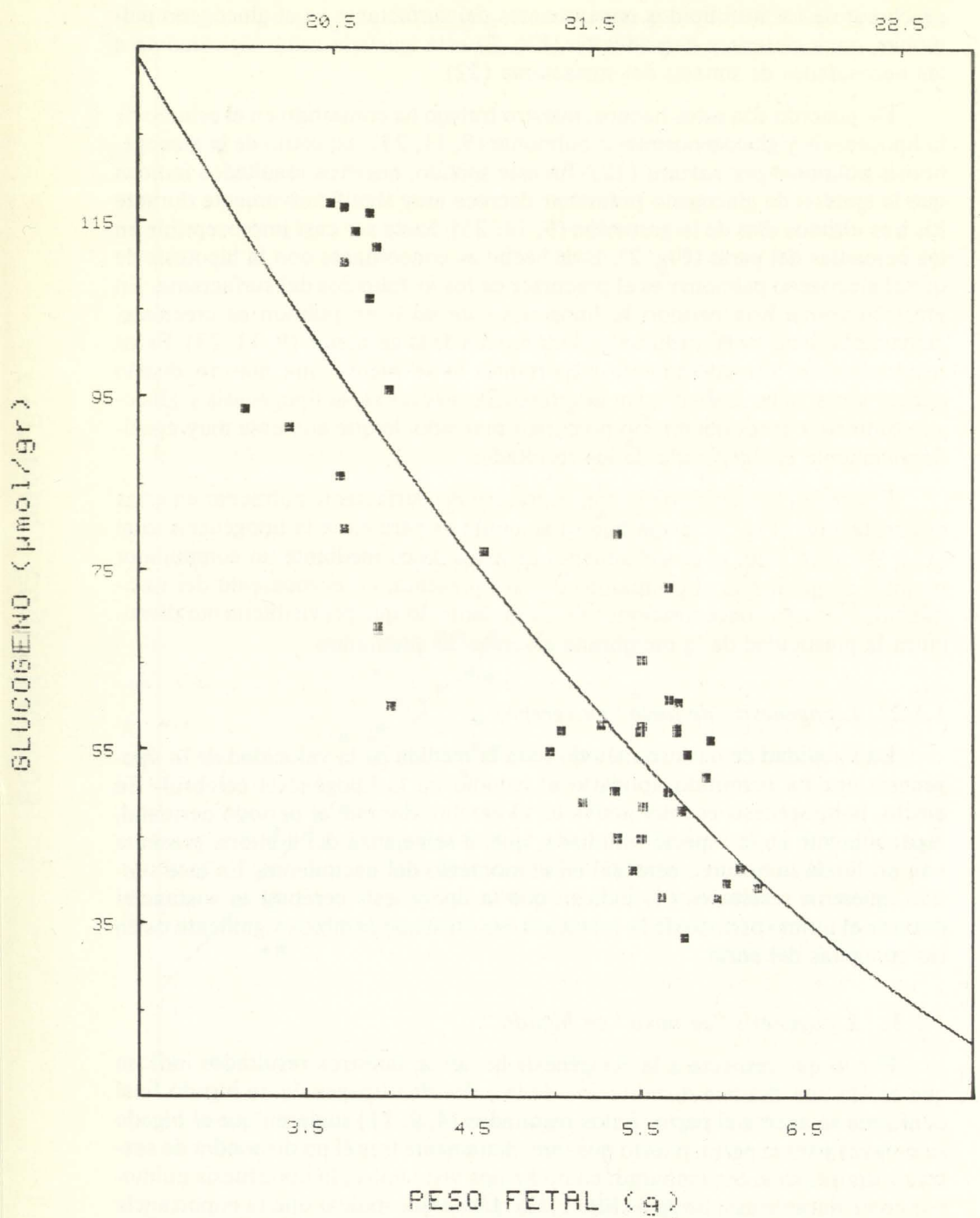


Figura 2. Ajuste realizado por computador de las concentraciones de glucógeno pulmonar fetal durante los últimos días de la gestación de la rata (22).

estar condicionada por el hecho de reservar los sustratos lipogénicos para el desarrollo pulmonar.

1.1.4. *Isoenzimas de la lactato deshidrogenasa hepática durante el desarrollo fetal*

Dado que el consumo de lactato durante el período postnatal está directamente relacionado con las concentraciones de oxígeno en sangre (3), 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. 3). En este sentido, nuestros resultados indican (14) un aumento de la proporción de la LDH-4, hasta alcanzar un máximo en el 21 día 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. 4). 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.

1.2. **Adaptación del metabolismo de la gestante durante el desarrollo fetal**

Es evidente que, puesto que la gestante aporta la totalidad de los sustratos requeridos por el feto, 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 posibilidad de medir la lipogénesis fetal y materna sincrónicamente; es decir, sin retrasos o desfases debidos a la distribución de los sustratos.

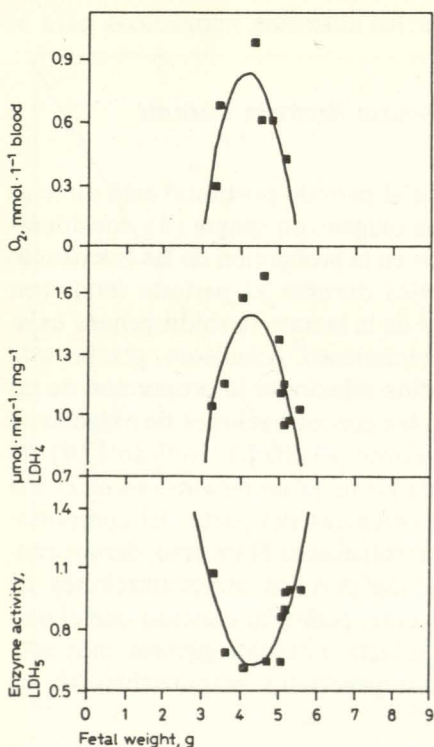


Figura 3. Concentraciones de oxígeno en sangre y principales isoenzimas de la lactato deshidrogenasa hepática en feto de rata durante los últimos días de la gestación (14). Para la correspondencia entre el peso fetal y la edad gestacional véase Fig. 2.

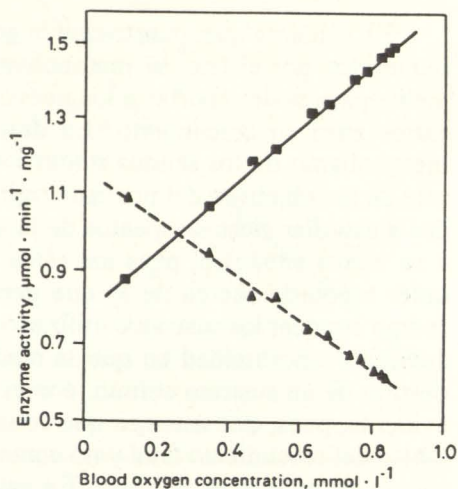


Figura 4. Correlación lineal entre las concentraciones de oxígeno en sangre e isoenzimas de la lactato deshidrogenasa hepática durante los dos últimos días de la gestación (ver figura anterior, referencia 14).

1.2.1. Lipogénesis "de novo" en hígado materno

La lipogénesis hepática materna decrece durante los últimos días de la gestación (4), incluso por debajo de los niveles observados en ratas no gestantes (Tabla I). Estos resultados indican que el hígado materno restringe sus necesidades de glucosa para aportar al feto toda la glucosa disponible.

Tabla I

CAPACIDAD LIPOGENICA DE LOS TEJIDOS MATERNOS Y FETALES DURANTE LOS ULTIMOS DIAS DE LA GESTACION EN LA RATA (4)

Rates of lipogenesis in vivo in maternal and foetal tissues during late gestation and after parturition in the rat
For details see the Experimental section. The results are means \pm S.E.M. ($n = 6-10$). Rates of lipogenesis are expressed as μmol of $^3\text{H}_2\text{O}$ incorporated into lipid/h per g wet wt. of tissue or per ml of whole blood. Values that are significantly different by Student's t test from those for virgin rats or from those for foetuses after 20 days of gestation are shown: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

State of rats	Maternal tissues			Foetal tissues		
	Liver	Blood	Adipose	Placenta	Liver	Lung
Virgin	17.0 ± 1.6	1.1 ± 0.2	10.7 ± 1.2	—	—	—
Pregnant						
20 days	$27.9 \pm 1.2^{***}$	$3.2 \pm 0.4^{**}$	$6.4 \pm 0.3^{**}$	4.8 ± 0.4	18.4 ± 0.9	6.4 ± 0.3
21 days	18.6 ± 1.7	$3.2 \pm 0.3^{**}$	$7.5 \pm 0.6^*$	$3.8 \pm 0.3^*$	$12.4 \pm 1.2^{**}$	$8.0 \pm 0.6^{**}$
22 days	$10.8 \pm 0.7^{**}$	1.5 ± 0.1	10.7 ± 1.0	$3.6 \pm 0.1^*$	$7.6 \pm 0.9^{**}$	$8.2 \pm 0.7^{**}$
1 day post partum	$22.5 \pm 2.5^*$	$3.3 \pm 0.5^{**}$	12.6 ± 1.2	—	—	—

La disminución de la lipogénesis hepática materna coincide con la caída de los niveles plasmáticos de insulina (Tabla II, ref. 4). Este hecho está a favor de la hipótesis de que la lipogénesis hepática se regula durante la gestación por los niveles de insulina circulantes. Sin embargo, nuestros resultados sugieren (4,

Tabla II

CONCENTRACIONES DE METABOLITOS Y HORMONAS EN SANGRE MATERNA DURANTE EL ULTIMO PERIODO DE LA GESTACION (4)

Concentrations of metabolites and hormones in plasma during late gestation and after parturition in the rat
Blood was collected from the aorta, and the metabolites and hormones were determined as described in the Experimental section. The results are means \pm S.E.M. ($n = 6-10$). Values that are significantly different by Student's t test from those for virgin rats are shown: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

State of rats	Glucose ($\mu\text{mol}/\text{ml}$)	Non-esterified fatty acids ($\mu\text{mol}/\text{ml}$)	Triacylglycerols ($\mu\text{mol}/\text{ml}$)	Insulin ($\mu\text{units}/\text{ml}$)	Progesterone (ng/ml)
Virgin	7.4 ± 0.2	0.27 ± 0.05	1.5 ± 0.1	25.6 ± 3.6	25.4 ± 4.1
Pregnant					
20 days	$6.3 \pm 0.3^*$	$1.08 \pm 0.07^{***}$	$5.3 \pm 0.4^{***}$	$93.3 \pm 14.0^{***}$	$56.4 \pm 7.4^{**}$
21 days	$6.4 \pm 0.1^*$	$1.83 \pm 0.33^{***}$	$6.0 \pm 0.2^{***}$	$65.8 \pm 16.5^*$	$167.2 \pm 35.9^{***}$
22 days	$5.0 \pm 0.2^{***}$	$0.96 \pm 0.06^{***}$	1.7 ± 0.1	37.0 ± 6.7	25.9 ± 2.5
1 day post partum	6.9 ± 0.1	—	2.5 ± 0.3	26.6 ± 6.4	$7.5 \pm 1.0^{**}$

11, 13) 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 (12), 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 (12).

1.2.2. *Síntesis de cuerpos cetónicos en la gestante*

Durante el último período de la gestación aumentan los ácidos grasos circulantes en la sangre de la gestante, 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 una anómala inhibición de la cetogénesis o, alternativamente, por un consumo exacerbado de cuerpos cetónicos por los tejidos maternos y/o fetales.

Para intentar solventar este dilema decidimos investigar la capacidad cetogénica del hígado de la gestante en hepatocitos aislados. Nuestros resultados (2) indican que la capacidad cetogénica del hígado de la gestante está considerablemente aumentada durante el último período de la gestación (Tabla III). El aumento de la síntesis de cuerpos cetónicos es ostensible tanto si se utiliza oleato u octanoato 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

Tabla III

PRODUCCION DE CUERPOS CETONICOS EN HEPATOCITOS AISLADOS PROCEDENTES DE RATAS GESTANTES (2)

THE FATE OF OLEATE IN ISOLATED HEPATOCYTES FROM PREGNANT RATS

Rats	Esterified fatty-acid	Ketone bodies	CO ₂
Virgin	12.7±1.6	25.3±2.5	0.8±0.2
Pregnant 20 d	8.4±2.0*	53.0±8.0*	0.6±0.2
" 21 d	7.9±1.7*	51.7±7.0*	0.6±0.2
" 22 d	7.2±1.0*	42.4±5.0*	1.1±0.1

Results are means ± S.E.M. (n= 6-8); esterified fatty acids are expressed in μmol of oleate incorporated into lipids/h per g wt. w., ketogenesis as μmol of ketone bodies formed/h per g wt.w. and CO₂ as μmol of oleate converted into CO₂/h per g w.w. Values from pregnant rats that are significantly different from those observed in virgin rats are indicated by *p < 0.05.

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.

1.2.3. *Gluconeogénesis hepática y renal en la gestante*

Como ya se ha mencionado anteriormente, la glucosa es el principal sustrato energético y plástico del metabolismo fetal. Por esta razón, el metabolismo de la gestante se adapta a la utilización de otros sustratos metabólicos, con objeto de ahorrar glucosa en beneficio de las necesidades fetales. En este sentido, hemos querido investigar los procesos metabólicos maternos suministradores de glucosa endógena. Así, hemos estudiado la capacidad glucogenolítica y gluconeogénica de la gestante, ante la sospecha de que tales procesos estarían aumentados para suplementar a la glucosa exógena, claramente insuficiente para las extraordinarias necesidades fetales. En efecto, nuestros resultados (26) indican que la gluconeogénesis materna, tanto hepática como renal, está muy aumentada durante el último estadio de la gestación. De hecho, la gluconeogénesis total a partir del lactato da cuenta de, aproximadamente, el 50 por 100 de las necesidades fetales de glucosa (26, 27).

1.3. **Influencia de factores nutricionales y hormonales en el desarrollo materno-fetal**

1.3.1. *Influencia del ayuno materno*

Hemos estudiado la influencia del ayuno materno sobre la lipogénesis en diversos tejidos maternos (13), 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 (13). 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.

1.3.2. *Influencia de los 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 disminuye muy sensiblemente la velocidad lipogénica hepática fetal, coincidiendo con el aumento de la glucogenosíntesis en este mismo tejido (9, 11). Estos resultados indican que el aumento de la síntesis del glucógeno producido por los glucocorticoides disminuye las disponibilidades de sustrato para la lipo-

génesis. Este hecho indica, a su vez, que la glucosa materna es el principal sustrato de la lipogénesis fetal.

Por otro lado, el tratamiento con glucocorticoides aumenta la concentración de fosfolípidos del surfactante pulmonar (30), lo que parece indicar que los glucocorticoides mejoran las propiedades tensioactivas del surfactante. Asimismo, el tratamiento con glucocorticoides no afecta a la glucogenólisis pulmonar, permitiendo el suministro de la principal fuente de esqueletos carbonados para la síntesis de los fosfolípidos del surfactante (30).

1.3.3. 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 a la velocidad lipogénica del hígado y pulmón fetal (Tabla IV, ref. 19). Estos resultados indican que otros factores, además de la

Tabla IV

EFFECTO DE LA DIABETES MATERNA SOBRE LA CAPACIDAD LIPOGENICA DE LOS TEJIDOS MATERNOS Y FETALES DURANTE LOS ULTIMOS DIAS DE LA GESTACION (19)

Rates of lipogenesis in vivo in maternal and foetal tissues during late gestation in fed control, glucose-intubated and streptozotocin-diabetic and starved rats

For details see the Experimental section. The results are means \pm S.E.M. ($n = 6-20$). Rates of lipogenesis are expressed as μmol of $^3\text{H}_2\text{O}$ incorporated into lip./h per g wet wt. Values that are significantly different by Student's *t* test from those for fed control rats of the corresponding day of gestation are shown by: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

State of rats	Gestation period (days)	Maternal tissues		Foetal tissues	
		Liver	Adipose	Liver	Lung
Fed control	20	26.1 \pm 1.5	4.9 \pm 0.8	16.7 \pm 1.2	6.5 \pm 0.5
	21	18.5 \pm 0.8	6.0 \pm 0.4	12.5 \pm 0.8	8.0 \pm 0.4
	22	13.4 \pm 1.0	8.3 \pm 1.0	9.5 \pm 0.4	9.0 \pm 0.4
Fed glucose-intubated	20	25.2 \pm 2.4	4.0 \pm 0.5	16.9 \pm 0.5	6.5 \pm 0.5
	21	18.2 \pm 1.4	5.7 \pm 0.5	15.9 \pm 0.5***	8.2 \pm 0.4
	22	13.9 \pm 0.8	8.2 \pm 0.4	13.3 \pm 0.5***	8.5 \pm 0.4
Fed streptozotocin-diabetic	20	12.0 \pm 1.2***	5.3 \pm 0.7	16.2 \pm 1.2	6.3 \pm 0.5
	21	13.4 \pm 1.0***	6.3 \pm 0.7	12.4 \pm 1.0	7.0 \pm 0.8
	22	10.0 \pm 1.0**	6.6 \pm 1.0	9.4 \pm 0.9	8.7 \pm 0.8
48 h-starved	20	12.1 \pm 0.7***	3.4 \pm 0.2**	11.9 \pm 0.7***	4.8 \pm 0.3*
	21	12.3 \pm 0.4***	4.8 \pm 0.3***	9.5 \pm 0.5**	5.7 \pm 0.4***
	22	10.5 \pm 0.7**	4.1 \pm 0.4***	6.8 \pm 0.3***	5.0 \pm 0.6***

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 (19), lo que, una vez más, señalaría a la insulina como la hormona reguladora de la lipogénesis en los tejidos fetales.

1.3.4. *Influencia de la prolactina, estrógenos y progestágenos*

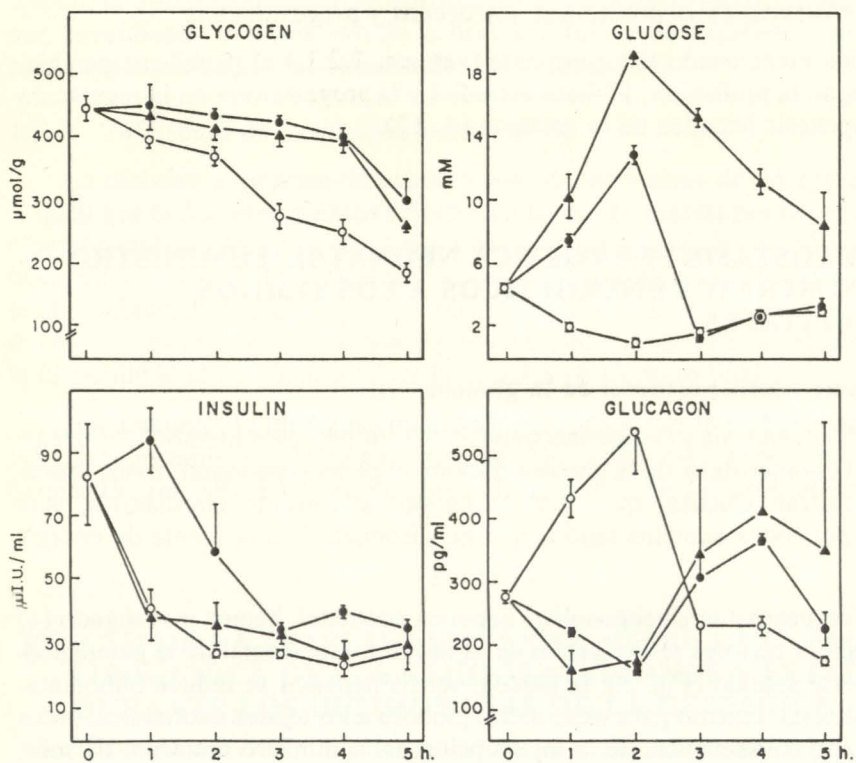
Hemos mencionado anteriormente (ver sec. 1.2.1.) el papel que posiblemente juegan la prolactina, 17-beta-estradiol y la progesterona en la regulación de la lipogénesis hepática de la gestante (4, 12).

2. HOMEOSTASIS ENERGETICA NEONATAL. SUMINISTRO DE SUSTRATOS ENERGETICOS A LOS TEJIDOS NEONATALES

2.1. Homeostasis postnatal de la glucosa

La glucogenolisis y la gluconeogénesis son los procesos metabólicos encargados de la homeostasis de la glucosa durante el período neonatal. Estos procesos suministran glucosa, que, distribuida por el torrente circulatorio, será utilizada por todos aquellos tejidos que no disponen de una fuente de energía propia.

Con respecto a la glucogenolisis hepática postnatal, hemos investigado (1) los principales factores responsables de la inducción postnatal de la glucogenolisis. En este sentido (Fig. 5), 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 (1) que el páncreas endocrino neonatal, respondiendo a estímulos aún no dilucidados, responde a la exposición extrauterina con el aumento de la secreción de glucagón y la caída drástica de las concentraciones plasmáticas de insulina (Fig. 5). 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 (ver sec. 2.2.1.) cómo la falta de estas señales disminuye las disponibilidades de glucosa durante la prelactancia (21).



Effect of the administration of glucose on liver glycogen, plasma glucose, insulin and glucagon concentrations after birth. Immediately following birth, newborn rats were injected intraperitoneally with NaCl (○), glucose (●) or glucose plus mannoheptulose (▲). After 0–5 h, newborn rats were killed and the livers and plasmas used to determine metabolite and hormone concentrations. Results are means \pm S.E. ($n = 4-10$).

Figura 5. Concentraciones de glucógeno, glucosa, insulina y glucagón en sangre de neonato de rata durante las cinco primeras horas de vida extrauterina (1).

A pesar de la intensa glucogenolisis postnatal, la recuperación de la glucemia ocurre tardíamente (Fig. 6, ref. 25), lo que sugiere 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 (16, 18). Nuestros resultados indican que la tardía recuperación de la glucemia observada en los neonatos 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 (16).

2.2. Homeostasis energética del cerebro durante el periodo perinatal

Es bien conocido el hecho de que la glucosa constituye el principal sustrato del cerebro durante la vida adulta. Asimismo, el principal sustrato del cerebro fetal es también la glucosa, que le llega, vía transplacentaria, procedente de la madre. Por otro lado, tras el parto y durante la lactancia, la falta de glucosa en la leche materna hace que los cuerpos cetónicos se constituyan en sustrato mayoritario del crecimiento cerebral. Sin embargo, durante la prelactancia; es decir, el periodo que transcurre entre la interrupción de la alimentación transplacentaria y el inicio de la lactancia, las disponibilidades energéticas del cerebro son limitadas, dada la competencia por la glucosa de otros tejidos y la inexistencia todavía de cuerpos cetónicos. Durante este periodo, sin embargo, el neonato dispone de otro sustrato presente en sangre. Nos referimos al lactato que se acumula en sangre durante el último periodo de la gestación y que desaparece rápidamente tras el parto. Por consiguiente, nos propusimos investigar la posible contribución del cerebro a la utilización del lactato plasmático.

Nuestros resultados indican que el cerebro fetal tiene una alta capacidad de utilización de lactato durante los últimos días de la gestación (Fig. 7, ref. 17). Sin embargo, es improbable que durante la vida fetal, el cerebro haga uso de esta capacidad, ya que el consumo del lactato depende en gran parte del oxígeno disponible, siendo las concentraciones de oxígeno en sangre muy bajas durante la vida fetal tardía (13, 14). Más tarde, sin embargo, durante las primeras horas de vida extrauterina, es muy probable que el cerebro del neonato haga uso de esta capacidad, pasando a ser el lactato el sustrato cerebral más importante, tanto como fuente de energía (17) como de esqueletos carbonados (22). De acuerdo con estos resultados, el lactato es, por consiguiente, el sustrato «puente» entre la glucosa suministrada vía transplacentaria y los cuerpos cetónicos que, procedentes de la oxidación de los ácidos grasos lácteos, constituyen el sustrato básico del desarrollo del cerebro durante la lactancia.

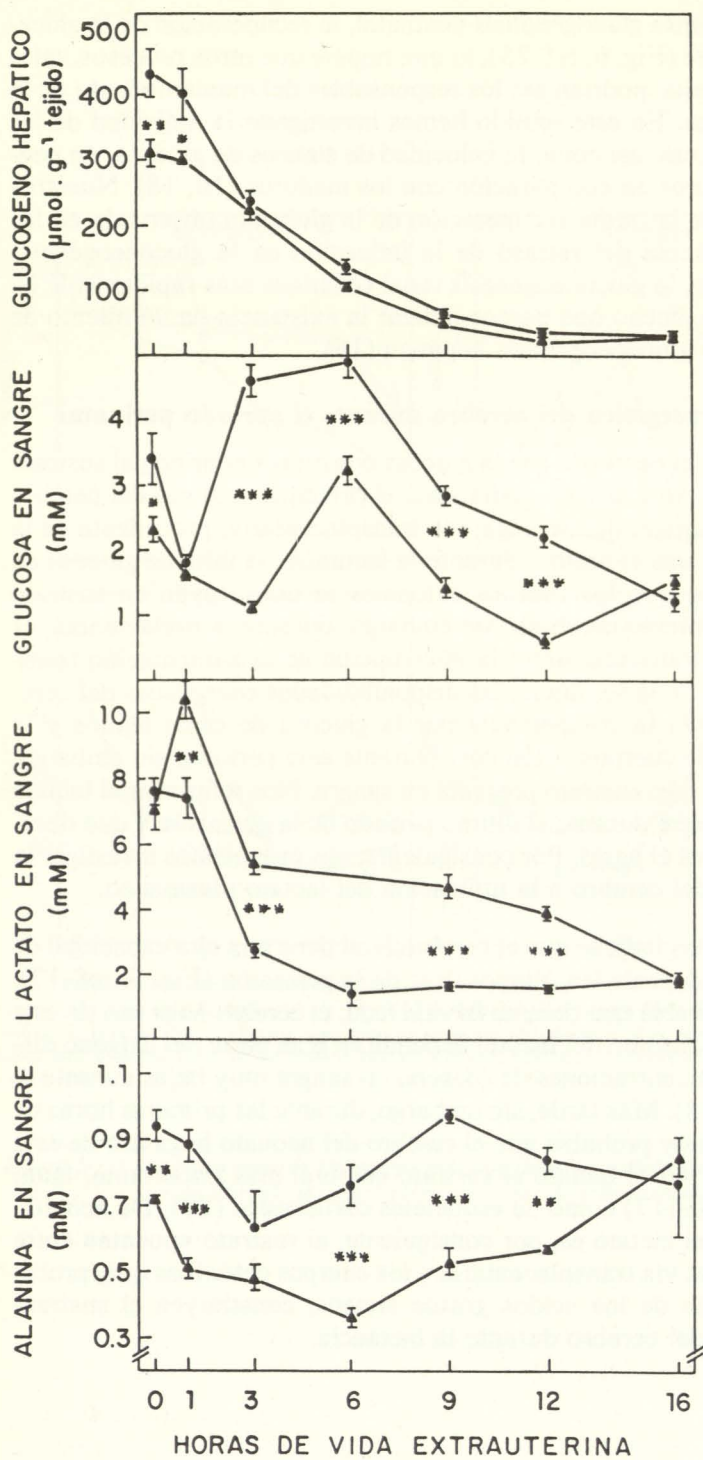
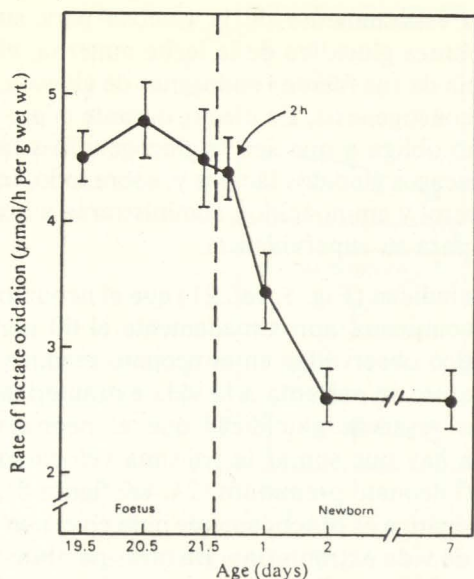


Figura 6. Concentración de los principales metabolitos energéticos en sangre de neonato de rata durante las primeras horas de vida extrauterina (25). Circulos: neonatos maduros. Triángulos: neonatos prematuros.



Effect of perinatal age on the capacity for lactate oxidation by rat brain in vitro

Brain slices were incubated at 37°C in phosphate-physiological saline containing 0.5 μ Ci of L-[U- 14 C]lactate and 12 mM-L-lactate with pure oxygen as the gas phase. Caesarian-delivered newborns (2 h) were maintained at 37°C in a continuous stream of water-saturated air without feeding. Naturally delivered newborns were maintained with their mothers up to the time of the experiments. For experimental details see the text. Results are means \pm S.E.M. (indicated by the bars) ($n = 15-20$).

Figura 7. Capacidad cerebral de oxidación terminal de lactato durante el periodo perinatal (17).

3. CONPORTAMIENTO METABOLICO DEL NEONATO PREMATURO. INMADUREZ METABOLICA Y VULNERABILIDAD POSTNATAL

Los resultados resumidos hasta ahora sirven de introducción a este capítulo, dedicado exclusivamente al metabolismo del neonato prematuro. Por consiguiente, a continuación nos referimos a los resultados directamente relacionados con los neonatos prematuros que, unidos a los resumidos hasta ahora, constituyen el núcleo básico de los objetivos del presente trabajo.

3.1. Inmadurez endocrina del prematuro. Disminución de las disponibilidades postnatales de glucosa

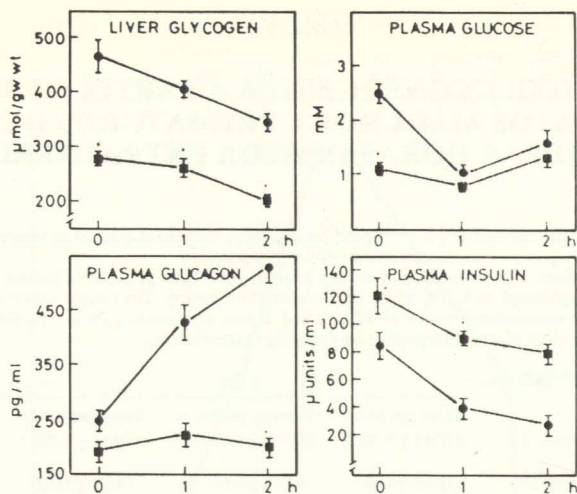
Es bien conocido el hecho de que la glucosa no sólo es el sustrato de elección por la mayoría de los tejidos, sino que algunos de ellos (cerebro, eritrocitos,

médula renal, gonadas, 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 los gluconeogénesis. En efecto, durante la pre-lactancia, la ausencia de aporte exógeno obliga a que sea la glucogenolisis la única fuente de glucosa. Más tarde, los escasos glúcidos lácteos y, sobre todo, la gluconeogénesis, a partir del lactato, glicerol y aminoácidos, suministrarán a los tejidos neonatales la glucosa necesaria para su supervivencia.

En este sentido, nuestros resultados indican (Fig. 8, ref. 21) que el neonato prematuro posee, en el momento del nacimiento, aproximadamente el 60 por 100 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 (21; ver figura 8). 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 pasada la primera hora 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 utilizables 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.

El retraso en la inducción de la glucogenolisis observada en el neonato prematuro está, posiblemente, condicionado por la ausencia de la secreción postnatal de glucagón observada en el neonato nacido a término (Fig. 8, ref. 21). Este hecho, unido al menor aclaramiento postnatal de la insulina plasmática observada en el neonato prematuro, explica por sí solo la disminución de la velocidad glucogenolítica, ya que ésta está relacionada directamente con la razón insulina/glucagón (1). Por otro lado, 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 de las expuestas, puesto que el par insulina/glucagón dirige decisivamente el metabolismo energético.

Inmediatamente tras el nacimiento, las necesidades de glucosa son tales que, aun en el neonato a término, la intensa glucogenolisis es incapaz de mantener la glucemia, apareciendo la denominada «hipoglucemia postnatal». Pues bien, nuestros resultados indican (16) que la hipoglucemia postnatal 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 (Figura 6). El responsable del retraso en la reaparición de la normoglucemia parece ser, indudablemente, la incapacidad del prematuro de poner en funciona-



Liver glycogen, plasma glucose, glucagon and insulin concentrations in severely premature (■) and term (●) newborn rats during the first 2 h after delivery (means \pm SEM, n = 5–10). *In comparison with the value at term $p < 0.001$.

Figura 8. Concentraciones de glucógeno hepático, glucosa, glucagón e insulina plasmática en neonatos maduros (círculos) y prematuros (cuadrados) durante las dos primeras horas de vida extrauterina (21).

miento los mecanismos de síntesis de glucosa *de novo*; es decir, la gluconeogénesis. En efecto, nuestros resultados (16, 18, 25) muestran la existencia de un considerable retraso en la inducción de las enzimas gluconeogénicas hepáticas (Tabla V), que da como resultado una disminución muy sustancial de la capacidad gluconeogénica del prematuro (Tabla VI).

Tabla V

ACTIVIDAD DE LA FOSFOENOLPIRUVATO CARBOXICINASA EN HIGADO Y RIÑÓN DE NEONATO DE RATA DURANTE LAS PRIMERAS HORAS DE VIDA EXTRAUTERINA

Phosphoenolpyruvate carboxykinase activity in liver and kidney of term and preterm newborn rats during the first 6 h post partum

Term and preterm foetuses were delivered from pregnant rats on days 20.5 and 21.5 of gestation respectively. At 0, 3 h and 6 h post partum, the newborns were exsanguinated and their livers and kidneys removed to determine the activity of phosphoenolpyruvate carboxykinase. One unit of activity represents $1 \mu\text{mol}$ of H^{14}CO_2 fixed/min at 37°C . The results are means \pm s.e.m. for the numbers of rats shown in parentheses. * $P < 0.005$ and ** $P < 0.0005$ for comparison of preterm and term newborns by Student's *t* test.

		Phosphoenolpyruvate carboxykinase (units/g of tissue)			
		Liver		Kidney	
Time post partum (h)	Newborns ...	Term	Preterm	Term	Preterm
0		0.015 ± 0.002 (6)	0.015 ± 0.002 (6)	0.39 ± 0.03 (8)	0.18 ± 0.02 (8)**
3		0.240 ± 0.016 (8)	0.120 ± 0.011 (8)**	0.38 ± 0.02 (8)	0.22 ± 0.01 (8)**
6		0.680 ± 0.087 (8)	0.400 ± 0.066 (8)*	0.49 ± 0.05 (6)	0.31 ± 0.07 (8)*

Tabla VI

CAPACIDAD GLUCONEOGENICA A PARTIR DE LACTATO EN NEONATOS MADUROS Y PREMATUROS DURANTE LAS PRIMERAS HORAS DE VIDA EXTRAUTERINA (16)

Rates of lactate turnover and of [U-¹⁴C]lactate incorporation into blood glucose in term and preterm newborn rats at 3 h and 6 h post partum

Term and preterm newborn rats were intraperitoneally injected with 2 μ Ci of L-[U-¹⁴C]lactate at 3 h or 6 h post partum, and were exsanguinated at 5, 10, 15 or 20 min after the injection. The results shown in this Table have been obtained from the experimental values of Figs. 1 and 2, and are means \pm s.e.m. * $P < 0.025$, ** $P < 0.0025$, *** $P < 0.0005$, for comparison of term and preterm newborns by Student's t test.

Time post partum ...	3 h		6 h	
Parameter	Term newborns	Preterm newborns	Term newborns	Preterm newborns
Lactate fractional turnover rate, k (min ⁻¹)	0.0555 \pm 0.0003	0.0774 \pm 0.0007***	0.0817 \pm 0.0027	0.0414 \pm 0.0011***
Lactate turnover rate, R (μ mol/min per 100 g body wt.)	38.06 \pm 1.96	42.72 \pm 2.90	74.26 \pm 8.22	48.18 \pm 2.60*
Rate of [¹⁴ C]lactate incorporation into blood glucose (μ mol/min per 100 g body wt.)	6.52 \pm 0.46	2.95 \pm 0.07***	11.00 \pm 0.25	9.45 \pm 0.03**
Percentage of R incorporated into blood glucose	17.34 \pm 2.08	7.00 \pm 0.61**	15.10 \pm 1.32	18.23 \pm 1.80

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 periodo de la vida extrauterina.

3.2. Hipoxia postnatal del prematuro. Inhibición de la utilización del lactato

Algunos de los trabajos realizados en nuestro laboratorio con anterioridad al comienzo del presente trabajo 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. 9). Nuestros resultados (3, 22) 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, una hora 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

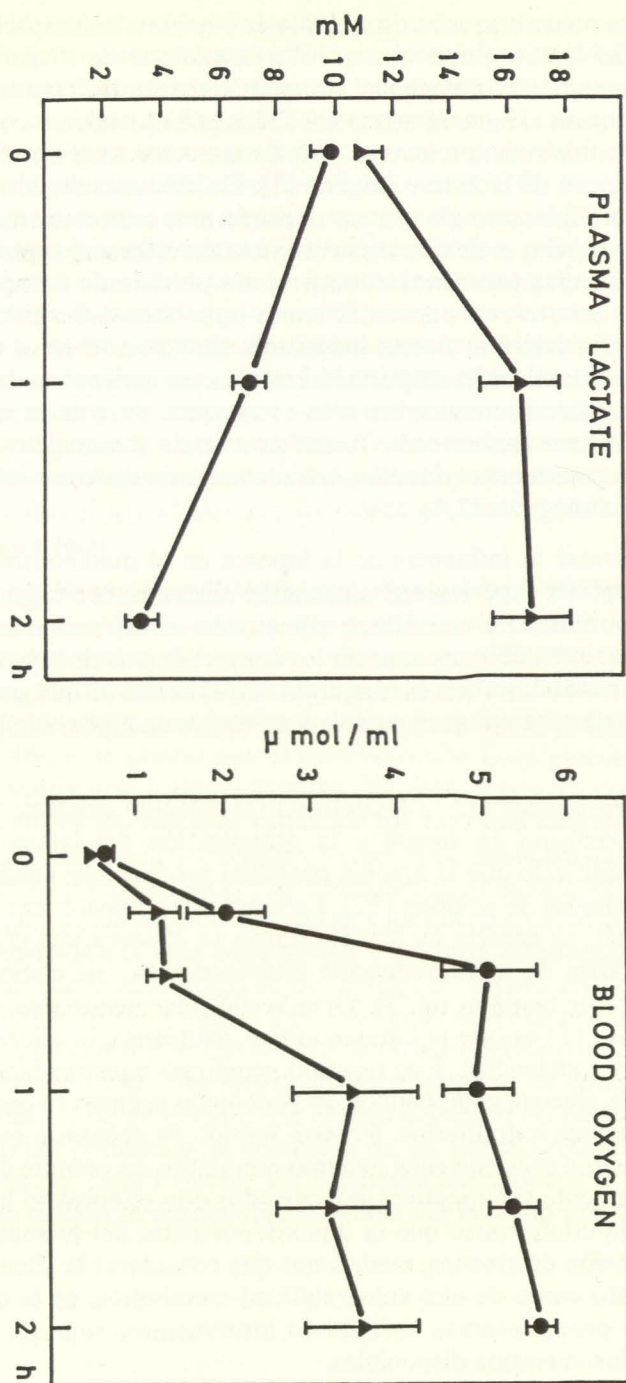


Figura 9. Concentraciones de lactato y oxígeno en sangre de neonatos maduros (círculos) y prematuros (triángulos) durante las dos primeras horas de vida extrauterina (22).

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, estadísticamente muy significativa, entre las concentraciones de lactato y oxígeno (3). 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. A esta indeseable situación tenemos que añadir la persistencia de la lactacidemia 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 y sus posibles secuelas patológicas (3,6).

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

Nuestros resultados (15, 22) confirman la relación existente entre la concentración de oxígeno en sangre y la desaparición del lactato plasmático, poniendo de manifiesto que la hipoxia postnatal produce elevadísimas lactiacidemias acompañadas de acidosis (22). La hipoxemia, consecuencia de la hipoxia experimental, se detecta en hígado, donde se observa una drástica disminución de la razón de oxidorreducción citoplasmática, así como de la carga energética (15; ver también ref. 7). Otro hecho muy importante deducible de estos resultados (15) es que la hipoxia inhibe, asimismo, la utilización de glucosa en estas circunstancias. Este resultado confirma nuestras 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 (29). En efecto, el feto durante el último período de la gestación acu-

mula 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. Es más, como tuvimos ocasión de demostrar en su momento (28), la mayor parte del lactato desaparecido es utilizado por vía oxidativa, resultando en el CO_2 espirado. 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 sustrato energético *del cerebro*. En este sentido, nuestros resultados (Figura 7, refs. 17,22) 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. 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 (17, 22) demuestran que la utilización de lactato por el cerebro del neonato es muy sensible al suministro de oxígeno. 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. 9). Como vemos, los hándicaps metabólicos se van sumando hasta poner en peligro la propia supervivencia del neonato prematuro.

3.3. Disminución de la mortalidad postnatal del prematuro por tratamiento transplacentario del feto con glucocorticoides. Cambios en el metabolismo fetal y neonatal como consecuencia del tratamiento

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 distress 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 indican que el prematuro posee, en el momento del nacimiento, concentraciones de surfactante pulmonar muy inferiores a las observadas en el maduro (22; ver Fig. 1). 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. 9). Es más, la falta de surfactante pulmonar podría ser la responsable de la persistencia de la lactacidemia en el prematuro, ya que, como hemos visto anteriormente, las lactacidemias 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. 10, referencia 25).

A la vista de estos resultados, tratamos a las gestantes con glucocorticoides, con la esperanza de que el previsible aumento de los fosfolípidos del surfactante pulmonar causado por el tratamiento hiciera desaparecer la hipoxia postnatal en el neonato prematuro, acelerando el consumo del lactato plasmático. En este sentido, nuestros resultados (30) indican que el tratamiento de la gestante con dexametasona modifica las condiciones de oxigenación de los tejidos neonatales, puesto que afecta a la evolución *post-partum* de las concentraciones plasmáticas de oxígeno y de lactato. Por consiguiente, el tratamiento con glucocorticoides mejora el metabolismo oxidativo del prematuro, cuyo mal funcionamiento constituye uno de sus principales hándicaps. En apoyo de esta hipótesis, nuestros resultados (30) indican que el tratamiento con glucocorticoides aumenta la concentración de fosfolípidos del surfactante pulmonar, lo que podría sugerir que la ventilación pulmonar del prematuro mejora con el tratamiento. Es más, el tratamiento con glucocorticoides no inhibe la glucogenolisis pulmonar (30; ver también Fig. 2), que, como hemos mencionado antes, es la principal fuente de esqueletos carbonados para la síntesis del surfactante. Por consiguiente, de acuerdo con nuestros resultados, el tratamiento de la gestante con glucocorticoides acelera el desarrollo pulmonar del feto, disminuyendo la hipoxia postnatal del neonato prematuro.

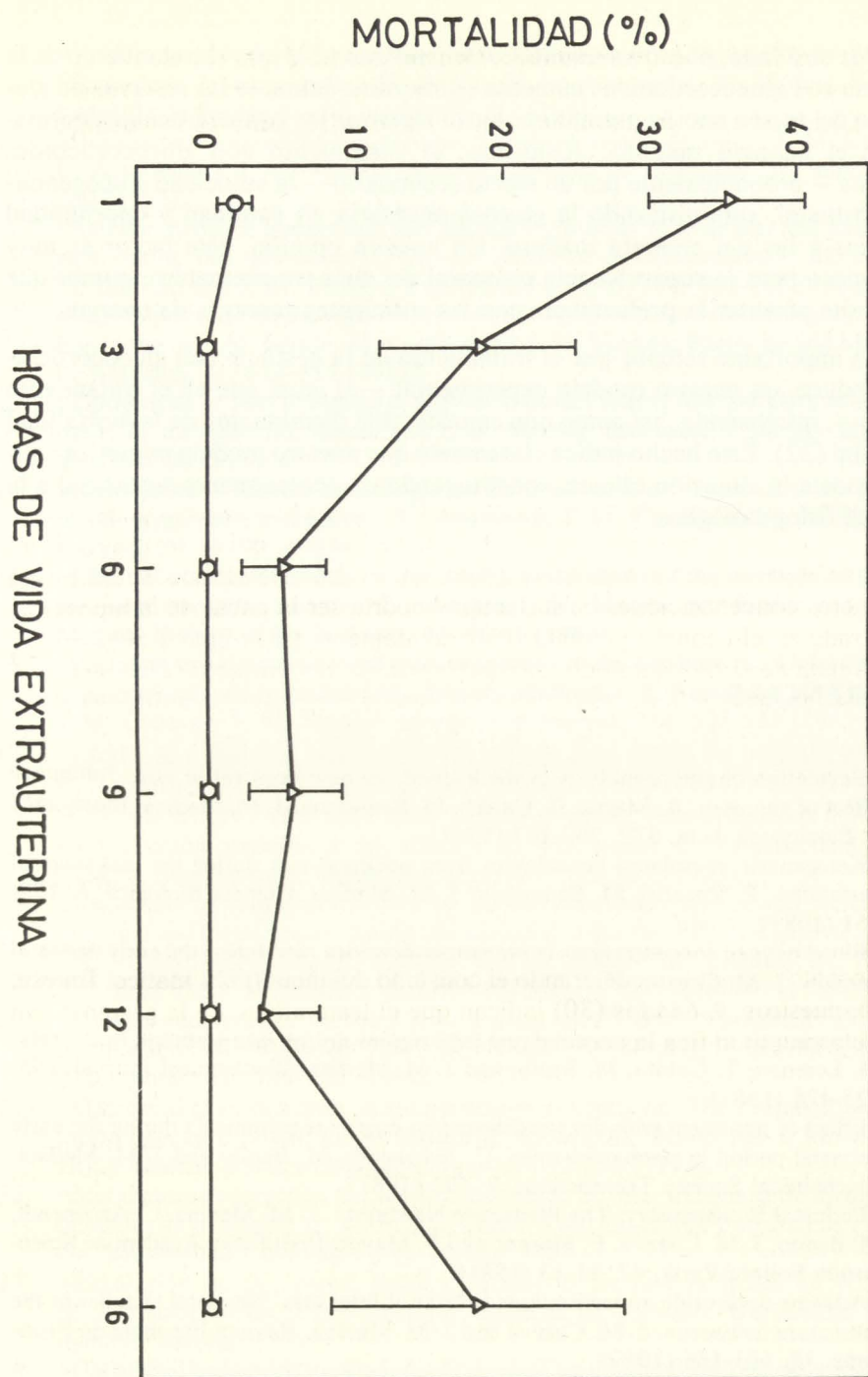


Figura 10. Mortalidad postnatal de neonatos maduros (círculos) y prematuros (triángulos) durante las primeras horas de vida extrauterina (25).

Por otro lado, nuestros resultados demuestran (22) que el tratamiento de la gestante con glucocorticoides aumenta extraordinariamente las reservas de glucógeno del recién nacido prematuro, hasta alcanzar las concentraciones normales en el neonato maduro. Asimismo, al tratamiento con glucocorticoides aumenta —probablemente por un efecto secundario— la velocidad glucogenolítica postnatal, suministrando la glucosa necesaria en cantidad y oportunidad idénticas a las del neonato maduro. En nuestra opinión, este factor es muy beneficioso para la supervivencia postnatal del neonato prematuro, puesto que le permite afrontar la prelactancia con las suficientes reservas de energía.

Es importante señalar que el tratamiento de la gestante con glucocorticoides produce, en nuestro modelo experimental —al igual que en el tratamiento clínico—, microsomía, así como una considerable disminución de la mortalidad postnatal (22). Este hecho indica claramente que nuestro modelo mimetiza suficientemente la situación clínica, constituyendo un acercamiento sustancial a la realidad fisiopatológica.

REFERENCIAS

1. «Regulation of glycogenolysis in the liver of the new born rat *in vivo*. Inhibitory effect of glucose». A. Martín, T. Caldés, M. Benito and J. M. Medina. *Biochimica et Biophysica Acta*, 672, 262-267 (1981).
2. «Ketogenesis in isolated hepatocytes from pregnant rats during the last stage of gestation». P. Rosario, M. Benito and J. M. Medina. *Ciencia Biológica*, 6, 159-161 (1981).
3. «Blood oxygen concentrations in premature newborn rats during the early neonatal period». J. M. Cuezva, F. J. Moreno and J. M. Medina. *IRCS Medical Science. Biochemistry*, 9, 644 (1981).
4. «Lipogenesis *in vivo* in maternal and fetal tissues during late gestation in the rat». M. Lorenzo, T. Caldés, M. Benito and J. M. Medina. *Biochemical Journal*, 198, 425-428 (1981).
5. «Effect of treatment with dexamethasone on energy requirements during the early neonatal period in premature rats». C. Arizmendi, M. Benito and J. M. Medina. *Biochemical Society Transactions*, 9, 391 (1981).
6. «Perinatal Biochemistry: The Premature Newborn». J. M. Medina, C. Arizmendi, M. Benito, J. M. Cuezva, F. Moreno and F. Mayor. *Pontificiae Academiae Scientiarum Scripta Varia*, 47, 11-13 (1981).
7. «Adenine nucleotide concentrations in liver of fetal rats. Neonatal changes in the premature newborn». J. M. Cuezva and J. M. Medina. *Revista Española de Fisiología*, 38, 161-166 (1982).
8. «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).

9. «Estudio *in vivo* de la lipogénesis y glucogenosíntesis en tejidos fetales de rata. Efecto de la dexametasona». M. Benito, M. Lorenzo and J. M. Medina. *Revista Española de Fisiología*, 38, supl., 237-242 (1982).
10. «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).
11. «Relation between lipogenesis and glycogen synthesis in maternal and foetal tissues during late gestation in the rat: Effect of dexamethasone». M. Benito, M. Lorenzo and J. M. Medina. *Biochemical Journal*, 204, 865-868 (1982).
12. «Role of prolactin on the regulation of hepatic lipogenesis *in vivo* during late gestation in the rat». M. Benito, M. Lorenzo and J. M. Medina. *Hormone and Metabolic Research*, 11, 614-615 (1982).
13. «Lipogenesis *in vivo* in maternal and foetal tissues during late gestation in starved rats». M. Lorenzo, M. Benito and J. M. Medina. *Biochemical Society Transactions*, 10, 369 (1982).
14. «Isoenzymes of lactate dehydrogenase in fetal rat liver. Their correlation with blood oxygen concentrations». C. Arizmendi, J. M. Cuezva and J. M. Medina. *Enzyme*, 29, 66-70 (1983).
15. «Effect of postnatal hypoxia on the energy homeostasis of the newborn rat during the early neonatal period». C. Arizmendi, M. Maties, M. Benito and J. M. Medina. *Biology of the Neonate*, 44, 36-41 (1983).
16. «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).
17. «Lactate as oxidizable substrate for rat brain *in vitro* during the perinatal period». C. Arizmendi and J. M. Medina. *Biochemical Journal*, 214, 633-635 (1983).
18. «The role of ATP/ADP ratio in the control of hepatic gluconeogenesis during the early neonatal period». J. M. Cuezva, E. Fernández, C. Valcarce and J. M. Medina. *Biochimica et Biophysica Acta*, 759, 292-295 (1983).
19. «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 intubation, streptozotocin-induced diabetes and starvation». M. Lorenzo, M. Benito, T. Caldés and J. M. Medina. *Biochemical Journal*, 216, 696-699 (1983).
20. «Phosphoenolpyruvate carboxykinase activity in the kidney of pregnant rats during late gestation». C. Valcarce, J. M. Cuezva and J. M. Medina. *Biochemical Society Transactions*, 12, 789-790 (1984).
21. «Decreased glucose supply in the premature newborn rat. Their relationship with insulin/glucagon ratio». C. Arizmendi, T. Caldés, M. Benito and J. M. Medina. *IRCS Medical Science (Biochemistry)*, 12, 592-593 (1984).
22. «Metabolismo energético del neonato prematuro de rata. Influencia de las disponibilidades de oxígeno». C. Arizmendi López. Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. 1983.
23. «Regulación de la síntesis lipídica durante el periodo perinatal en la rata». M. Lorenzo Balado. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 1984.
24. «Capacidad lipogénico materno-fetal "in vivo" en el último periodo de la gestación y tras el parto en la rata». M. Lorenzo Balado. Tesina de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 1980.
25. «La vía gluconeogénica durante el primer día de vida extrauterina en el recién

- nacido prematuro de rata». E. Fernández Sánchez. Tesina de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 1982.
26. «Aspectos metabólicos de la gestación. Capacidad gluconeogénica "in vivo" de la rata gestante». C. Valcarce López. Tesina de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 1983.
 27. «Increased gluconeogenesis in the rat at term gestation». C. Valcarce, J. M. Cuezva and J. M. Medina. *Life Sciences*. 1985 (en prensa).
 28. «Non-gluconeogenic fate of lactate during the early neonatal period in the rat». J. M. Medina, J. M. Cuezva and F. Mayor. *FEBS Letters*, *114*, 132-134 (1980).
 29. «The role of lactate as and energy substrate for the brain during the early neonatal period». J. M. Medina *Biology of the Neonate*. 1985 (en prensa).
 30. «Efecto de la hipoxia en el metabolismo energético del neonato dismaduro de rata». M. C. Juanes de la Peña. Tesis Doctoral (en curso).

