

UNIVERSIDAD DE GRANADA

TESIS DOCTORAL

Niveles de β -Endorfina y
ACTH en atletas tras pruebas
de corta, media y larga
distancia

CARLOS MENDOZA OLTRAS

Prov. + 1-110



R. 56. H 25

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Fisiología y Bioquímica

Director: Prof. Dr. C. Osorio

Granada,

Esta Tesis corresponde a la defendida por CARLOS MENDOZA OLTRAS, ante el Tribunal constituido por:

Presidente: Prof. Dr. D. Manuel de la Higuera Gonzalez
Catedrático de la Universidad de Granada.

Vocales: Prof. Dr. D. Jose E. Campillo Alvarez
Catedrático de la Universidad de Extremadura-Badajoz

Prof. Dr. D. Federico Garrido Torres-Puchol
Catedrático de la Universidad de Cordoba

Prof. Dr. D. M^a Estrella Ruiz Requena
Prof. Titular de la Universidad de Granada.

Secretario: Prof. Dr. D. Enrique Garcia Olivares
Prof. Titular de la Universidad de Granada.

Obteniendo la calificación de APTO "CUM LAUDE" en el día
4 de Julio de 1905.

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE CIENCIAS

SALIDA { N.º 1300
Fecha 15 JUL 1985

NIVELES DE BETA-ENDORFINA Y ACTH EN ATLETAS TRAS
PRUEBAS DE CORTA, MEDIA Y LARGA DISTANCIA.

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
GRANADA

N.º Documento 613409633
N.º Copia 15342074

Memoria que presenta para optar
al grado de Doctor en Ciencias
(Sección Biológicas).

El Licenciado:

Carlos Mendoza Oltras

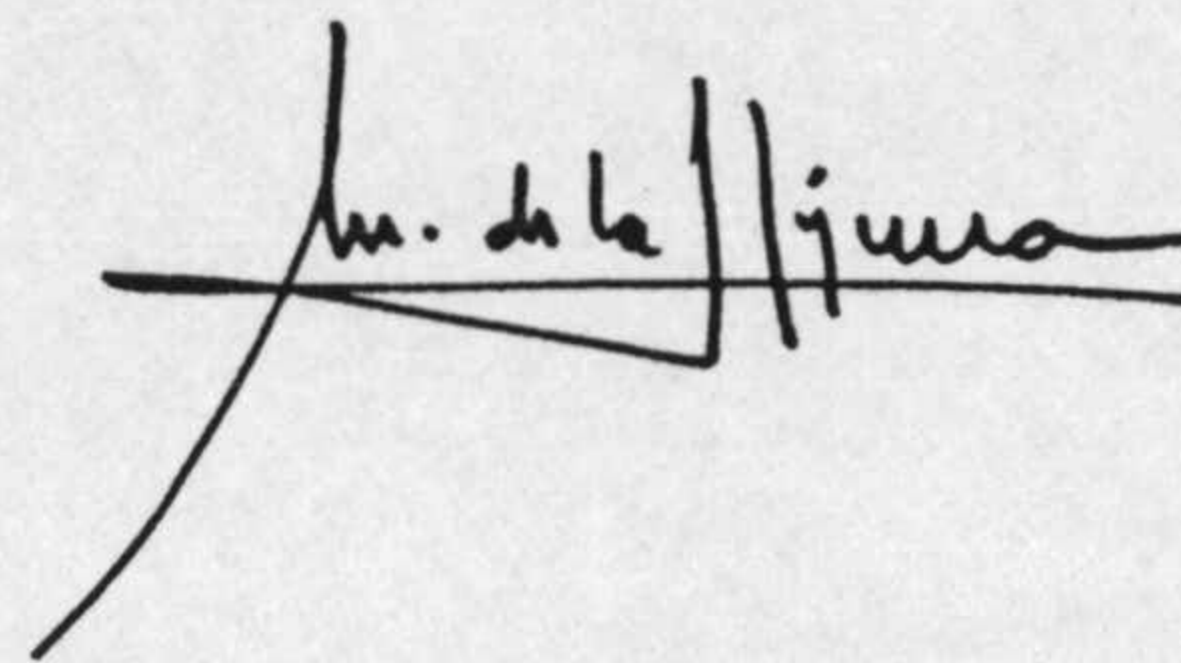
Fdo. Carlos Mendoza Oltras

D.MANUEL DE LA HIGUERA GONZALEZ, Catedrático de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias de Granada,

D E C L A R A :

Que la memoria del trabajo titulado "NIVELES DE BETA-ENDORFINA Y ACTH EN ATLETAS TRAS PRUEBAS DE CORTA, MEDIA Y LARGA DISTANCIA", presentada para aspirar al grado de Doctor por D.CARLOS MENDOZA OLTRAS, ha sido revisada por mí, encontrandola conforme para ser leída y defendida en esta Facultad de Ciencias ante el Tribunal que en su día se designe. Por todo lo cual acepto actuar como ponente de esta tesis doctoral.

Granada, 12 de junio de 1.985.

A handwritten signature in black ink, which appears to read "M. de la Higuera". The signature is written in a cursive style and is positioned below the date. A horizontal line is drawn across the signature, and a vertical line descends from the end of the signature.

D. CARLOS OSORIO PELAEZ, Catedrático de Fisiología General, Química Biológica y Fisiología Especial, de la Facultad de Medicina de Granada,

D E C L A R A:

Que la Tesis Doctoral "NIVELES DE BETA-ENDORFINA Y ACTH EN ATLETAS TRAS PRUEBAS DE CORTA, MEDIA Y LARGA DISTANCIA", que presenta D. CARLOS MENDOZA OLTRAS, para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas, ha sido realizada bajo su dirección.

Granada, 12 de junio de 1.985

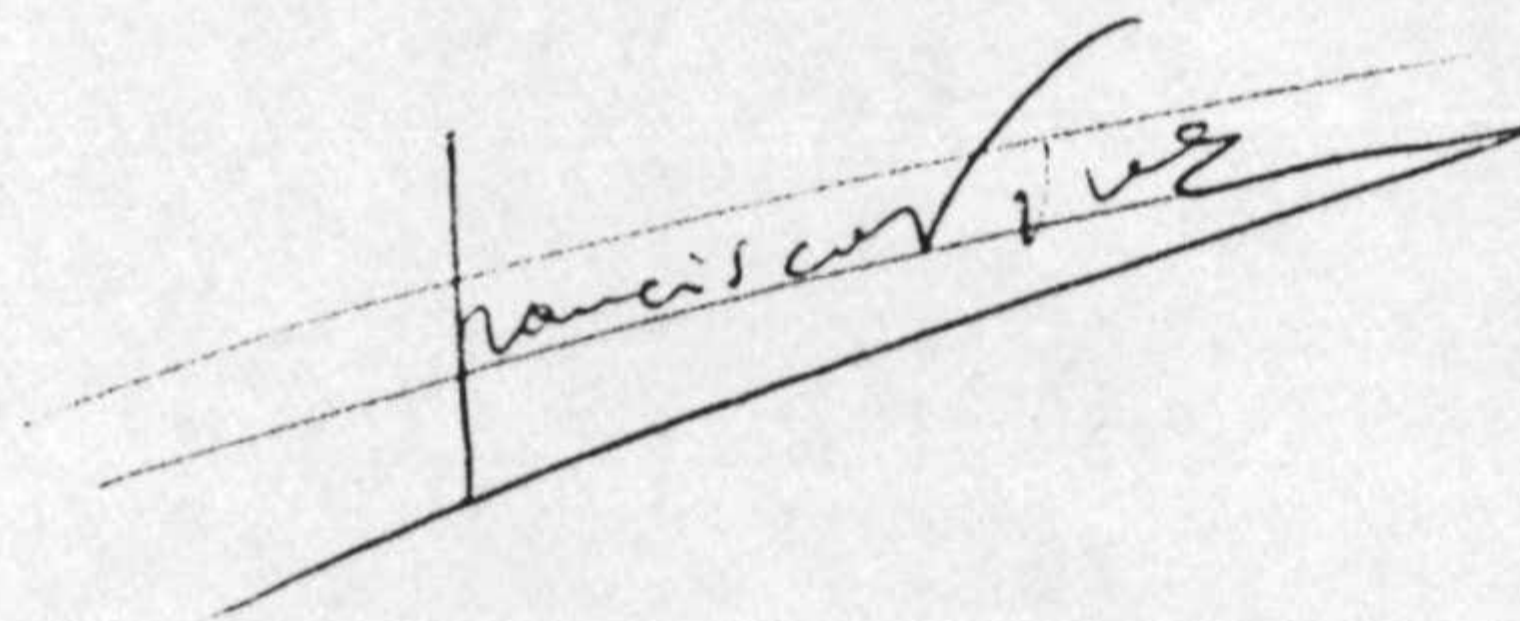
Osorio

D.FRANCISCO VIVES MONTERO, Profesor Adjunto
de Fisiología General y Fisiología Especial
de la Facultad de Medicina de Granada,

D E C L A R A:

Que la Tesis Doctoral "NIVELES
DE BETA-ENDORFINA Y ACTH EN ATLETAS TRAS PRUE-
BAS DE CORTA, MEDIA Y LARGA DISTANCIA", que
presenta D.CARLOS MENDOZA OLTRAS, para optar
al grado de Doctor en Ciencias Biológicas,
ha sido realizada bajo su dirección.

Granada, 12 de junio de 1.985.

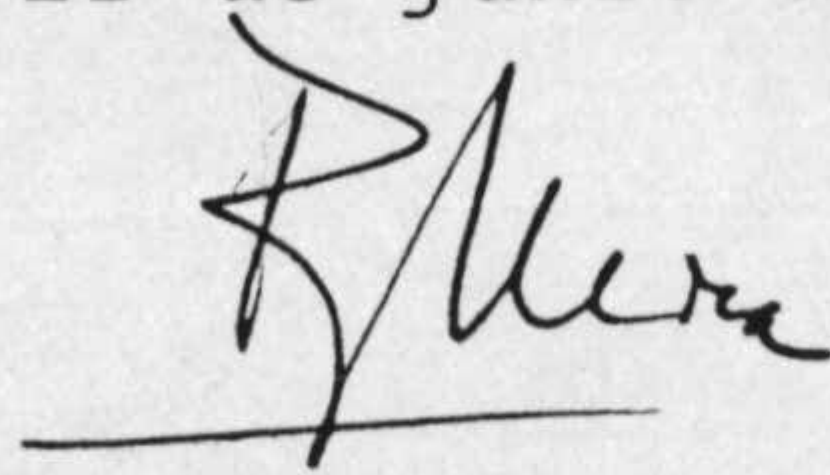
A handwritten signature in black ink, appearing to read "Francisco Vives", is written over a set of three horizontal lines. The signature is slanted upwards to the right.

D.FRANCISCO MORA TERUEL, Profesor Adjunto de Fisiología General y Fisiología Especial de la Facultad de Medicina de Granada,

D E C L A R A:

Que la Tesis Doctoral "NIVELES DE BETA-ENDORFINA Y ACTH EN ATLETAS TRAS PRUEBAS DE CORTA, MEDIA Y LARGA DISTANCIA", que presenta D.CARLOS MENDOZA OLTRAS, para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas, ha sido realizada bajo su dirección.

Granada, 12 de junio de 1.985.





A MIS PADRES

A MI TIA ERIC

MI AGRADECIMIENTO A:

Prof. CARLOS OSORIO PELAEZ, por la oportunidad que me ha dado de realizar investigación, por sus consejos y ayuda.

Dr. FRANCISCO VIVES MONTERO, por la ayuda que, desde la puesta a punto de las técnicas desarrolladas, hasta la total finalización de esta Tesis, me ha aportado continuamente.

Dr. FRANCISCO MORA TERUEL, por haberme comunicado saber y una gran ilusión.

Dras. ARACELI MORALES SANCHEZ y MARIA DEL CARMEN MENDOZA OLTRAS, y Dr. ALFONSO CARRERAS EGAÑA, por su constante ayuda y apoyo.

Dr. EMILIO SANCHEZ CANTALEJO, por su valiosa aportación en el análisis estadístico de los resultados.

D.SANTIAGO PECETE, por su valiosa ayuda y colaboración, así como por sus consejos técnicos durante el desarrollo de las pruebas. Y de un modo muy particular y afectuoso a todos los atletas que con su total entrega y ayuda han hecho posible este estudio.

Srta. AMPARO MUÑOZ, por su colaboración en el trabajo experimental y al resto del personal del laboratorio que de una forma u otra han podido

contribuir a la realización de esta Tesis.

De un modo muy especial a Dña. MARIA ANGUSTIAS DIAZ PENALVA y a la Srta. COCAS BARRECHEGUREN MARTIN, por su ayuda, estímulo y alegría.

Finalmente, a todos mis amigos y colaboradores que con su ayuda en la prueba común, me dieron la oportunidad de completar este estudio.

INDICE



1.- INTRODUCCION	1
1.1.- Péptidos neuroactivos	2
1.1.1.- Nomenclatura	8
1.2.- Beta-END y ACTH. Aspectos Generales	10
1.2.1.- Biosíntesis, transformación y almacen <u>a</u> miento de beta-END y ACTH	11
1.2.1.1.- En hipófisis	12
1.2.1.2.- En cerebro	16
1.2.2.- Distribución tisular de beta-END y ACTH.	21
1.2.2.1.- Hipófisis	21
1.2.2.2.- Cerebro	22
1.2.2.3.- Otros tejidos	24
1.2.3.- Acciones	26
1.2.4.- Receptores	28
1.2.4.1.- Distribución tisular de los receptores opiáceos	30
1.2.5.- Transformación extracelular	33
1.2.6.- Regulación de los niveles circulantes de beta-END y ACTH	33
1.2.6.1.- En la biosíntesis	33
1.2.6.2.- En la liberación	34
1.3.- Beta-END y ACTH en plasma	35
1.3.1.- Beta-END en plasma	37
1.3.1.1.- Valores normales en el adulto.	37
1.3.1.2.- Variaciones fisiológicas de los valores normales en el adulto	39

1.3.1.2.1.- Ritmos circadianos	39
1.3.1.2.2.- En el stress	39
1.3.1.2.3.- Otras causas de variación	43
1.3.1.2.4.- Reusmen	43
1.3.2.- ACTH en plasma	45
1.3.2.1.- Valores normales en el adulto.	45
1.3.2.2.- Variaciones fisiológicas de los valores normales en el adulto	47
1.4.- Barrera hematoencefálica	50
1.4.1.- Acceso de los neuropéptidos al S.N.C....	51
1.5.- Endocrinología del ejercicio físico	55
1.5.1.- Stress	55
1.5.2.- Hormonas hipotalámicas, hipofisarias y ejercicio físico	58
1.5.2.1.- Hormona del crecimiento (GH)..	60
1.5.2.2.- Tirotropina	61
1.5.2.3.- Luteotropina (LSH)	62
1.5.2.4.- Prolactina	62
1.5.3.- Hormonas de la corteza suprarrenal y ejercicio físico	63
1.5.4.- Hormonas del sistema simpático y ejercicio físico	65
1.5.5.- Hormonas pancreáticas y ejercicio físico	67
1.5.5.1.- Insulina	67
1.5.5.2.- Glucagón	68
1.6.- Beta-END, ACTH y ejercicio físico	69
1.6.1.- Introducción: Stress	69
1.6.2.- Efectos del ejercicio físico sobre la secreción de beta-END	71

1.6.3.- Efectos del ejercicio físico sobre la secreción de ACTH	72
1.6.4.- Paralelismo en la secreción de beta-END y ACTH en el ejercicio físico	73
1.6.5.- Niveles plasmáticos de beta-END y ACTH tras un esfuerzo físico dado	74
1.6.5.1.- En entrenados y sedentarios ..	74
1.6.5.2.- Secreción facilitada	76
1.6.6.- Amenorréa secundaria	76
1.6.7.- Síndrome de abstinencia	77
1.7.- Homeostásis	79
1.7.1.- Respuesta al ejercicio físico	80
1.8.- Regulación del agua corporal	83
1.8.1.- Regulación del volumen	84
1.8.2.- Stress	84
1.9.- Débito de oxígeno	85
1.10.- Resumen y planteamiento	86
2.- MATERIAL Y METODOS	92
2.1.- Material	93
2.1.1.- Material desechable	93
2.1.2.- Material inventariable	94
2.1.3.- Reactivos empleados	94
2.2.- Muestras utilizadas y grupos experimentales	95
2.2.1.- Desarrollo de las pruebas	98
2.2.2.- Extracción de la sangre	98
2.2.3.- Almacenamiento y conservación de las muestras	99
2.3.- Determinaciones analíticas	100
2.3.1.- Método de determinación de la glucosa ..	100

2.3.1.1.- Principio del método	101
2.3.1.2.- Descripción de la técnica	101
2.3.1.3.- Cálculo de resultados	102
2.3.2.- Método de determinación de lactato	102
2.3.2.1.- Principio del método	104
2.3.2.2.- Descripción de la técnica	104
2.3.2.3.- Cálculo de los resultados	105
2.3.3.- Método de determinación de ácidos grasos no esterificados	106
2.3.3.1.- Principio del método	107
2.3.3.2.- Descripción de la técnica	107
2.3.3.3.- Cálculo de los resultados	108
2.3.4.- Método de determinación de proteínas plasmáticas totales	108
2.3.4.1.- Principio del método	110
2.3.4.2.- Descripción de la técnica	110
2.3.4.3.- Cálculo de los resultados	110
2.3.5.- Método de determinación de hematocrito..	111
2.3.5.1.- Descripción de la técnica	111
2.3.5.2.- Cálculo de los resultados	112
2.3.6.- Método de determinación de hemoglobina..	112
2.3.6.1.- Principio del método	113
2.3.6.2.- Descripción de la técnica	114
2.3.6.3.- Cálculo de los resultados	115
2.3.7.- Método de determinación del volumen plasmático	116
2.3.7.1.- Principio del método	116
2.3.7.2.- Descripción de la técnica	117
2.3.7.3.- Cálculo de los resultados	117
2.3.8.- Método de determinación de la osmolari dad	118
2.3.8.1.- Principio del método	118

2.3.8.2.- Descripción de la técnica	119
2.3.8.3.- Cálculo de los resultados	120
2.3.9.- Radioinmunoanálisis de beta-END y ACTH..	120
2.3.9.1.- Técnica para el análisis de beta-END	121
2.3.9.1.1.- Extracción de beta-END	121
2.3.9.1.2.- Extracción de beta-LPH	122
2.3.9.1.3.- Extracción de beta-END por co lumnas de ODS- sílica	123
2.3.9.1.4.- Radioinmunoanáli- sis de beta-END...	125
2.3.9.1.5.- Trazado de la cur va standard	127
2.3.9.2.- Técnica para el análisis de ACTH	129
2.3.9.2.1.- Radioinmunoanáli- sis de ACTH	133
2.3.9.2.2.- Trazado de la cur va standard	136
2.3.10.- Cálculo de la variación de los resulta- dos y de la recuperación de los métodos análiticos	137
2.3.11.- Determinación psicológica de los esta- dos anímicos	140
2.3.11.1.- Descripción del POMS	141
2.4.- Clasificación de los grupos experimentales	142
2.5.- Métodos estadísticos	145

3.- RESULTADOS	146
3.1.- Tablas y gráficas de los resultados bioquímicos obtenidos en atletas antes y después de las pruebas físicas	149
3.2.- Tablas y gráficas de los resultados bioquímicos obtenidos en atletas y controles antes y después de la prueba común	170
3.3.- Tablas y gráficas de los resultados bioquímicos obtenidos en atletas tras un periodo de absti- nencia al ejercicio físico	192
3.4.- Estudio de la correlación existente entre beta- END y ACTH	197
4.- DISCUSION	201
4.1.- Marco de la presente investigación	202
4.2.- Sobre los métodos de determinación de ACTH y beta-END en plasma	204
4.2.1.- ACTH	204
4.2.2.- Beta-END	205
4.3.- Determinación de ACTH y beta-END	207
4.4.- Sobre la pérdida de agua plasmática	211
4.5.- Efecto de las distintas pruebas atléticas sobre la liberación de beta-END	213
4.6.- Efecto de las distintas pruebas atléticas sobre la liberación de ACTH	221
4.7.- Efecto del ejercicio sobre los parámetros meta- bólicos	227
4.7.1.- Sobre la glucosa plasmática	227
4.7.2.- Sobre los ácidos grasos libres	231

4.7.3.- Sobre el lactato	232
4.8.- Sobre los efectos diferenciales de una prueba común en individuos entrenados y no entrenados..	234
4.9.- Sobre la abstinencia al ejercicio físico	238
4.10.- Estudio de la correlación existente entre beta- END y ACTH circulantes	241
5.- CONCLUSIONES	244
6.- BIBLIOGRAFIA	246





1.- INTRODUCCION

1.1.- PEPTIDOS NEUROACTIVOS.

El conocimiento del influjo que el SNC ejerce sobre la secreción endocrina ha experimentado profundos cambios en la última década. Todas las hormonas hipofisarias son susceptibles de ser reguladas por el hipotálamo. Esto implica que la actividad de otras estructuras cerebrales, incluyendo la corteza, pueden modificar el equilibrio endocrino.

El conocimiento de los estímulos psicofisiológicos que afectan la secreción hormonal va avanzando más lentamente que la descripción de importantes vías y conexiones cerebrales. No obstante, el gran impulso actual de la investigación sobre la bioquímica y fisiología de los péptidos ha permitido clarificar procesos endocrinos poco conocidos y ha obligado a replantear las bases de la regulación neuro-hormonal.

La comunicación para coordinar la actividad celular a las necesidades del organismo se creía que estaba mediada por dos sistemas distintos e independientes: la transmisión sináptica y la hormonal. En el sistema nervioso, cada neurona va a transmitir información a un conjunto de neuronas a través de la sinapsis, liberando un neurotransmisor que causa efectos eléctricos inmediatos en la membra-

na postsináptica. Los dos grupos clásicos de neurotransmisores son las aminas activas y los aminoácidos; recientemente se ha incluido un nuevo grupo, el de los péptidos. Por otro lado, en el sistema endocrino las células glandulares van a liberar sustancias químicas muy activas, las hormonas. Estas sustancias de composición química muy variada, se van a distribuir por todo el organismo, produciendo cambios metabólicos en las células efectoras situadas lejos del punto de liberación, siendo sus efectos de lenta aparición y larga duración.

Con el descubrimiento de un nuevo grupo de sustancias, los neuromoduladores, las diferencias entre ambos sistemas no resultan tan evidentes. Se conocen ya más de una veintena de péptidos que actúan como mensajeros químicos (Fig. 1) transmitiendo señales entre las células que los secretan y sus efectores. Estos mensajeros se describieron inicialmente como "Factores", es decir, sustancias de naturaleza química desconocida que producían ciertos efectos fisiológicos. En la mayor parte de los casos tales factores estaban formados por aminoácidos y, por ser muy activos a nivel del sistema nervioso, recibieron la denominación de neuropeptidos (Bloom, 1.981).

Durante esta última década varios equipos de investigación (Terenius, 1.973; Pert y Synder, 1.973; Creese y Snyder, 1.975) demostraron la interacción estereoespecífica de derivados del opio marcados radiactivamente con componentes de las membranas sinápticas. La existencia en mamíferos de es-

estructuras específicas para reconocer la morfina planteó la cuestión de cual era su papel fisiológico. Una excitante posibilidad era que estos receptores fueran de hecho receptores para alguna sustancia producida por el sistema nervioso central, lo que equivaldría a que cada uno de nosotros dispondría de su propia "morfina endógena".

La búsqueda de esta "morfina natural" culminó con el descubrimiento de una serie de péptidos que se unían a los mismos receptores que la morfina (Hughes, 1.975; Terenius y Wahlström, 1.975; Hughes y col., 1.975 a; Pasternak y col., 1.975) dichos estudios se realizaron mediante radioinmunoanálisis y purificación de extractos cerebrales. Inmediatamente después se encontraron péptidos de idéntica o parecida estructura química en extractos de hipófisis (Teschemacher y col., 1.975; Cox y col., 1.975, 1.976; Ross y col., 1.977) y en el intestino (Puig y col., 1.977; Schulz y col., 1.977). Estas preparaciones de factores con actividad similar a la morfina, no solamente se unían específicamente a los receptores opiáceos, sino que también demostraron tener efectos analgésicos cuando se inyectaban en los ventrículos laterales (Pert y col., 1.977).

Además de encontrarse en cerebro e hipófisis, estos péptidos se encuentran en el intestino, LCR y sangre de humanos y animales (Pert y col., 1.976).

AGENTES PEPTIDICOS SINAPTICOS CONOCIDOS
O PROPUESTOS Y NEUROHORMONAS EN LOS MAMIFEROS

4.

SUBSTANCIA	Sitio donde se secreta la sustancia	
	Conocida	Propuesta
Substancia P	Terminaciones de las neuronas aferentes primarias; muchas - otras partes del cerebro	Retina, sistema gastrointestinal
Vasopresina	Hipófisis posterior	Otras partes del cerebro
Oxitocina	Hipófisis posterior	Otras partes del cerebro
Hormonas hipofisiotropicas hipotalámicas CRH	Eminencia media del hipotálamo	
TRH	Eminencia media del hipotálamo	Otras partes del cerebro, retina, sistema gastrointestinal
GRH	Eminencia media del hipotálamo	
Somatostatina	Eminencia media del hipotálamo	Otras partes del cerebro, sustancia gelatinosa, retina, sistema gastrointestinal
LHRH	Eminencia media del hipotálamo	Organos circunventriculares, terminaciones preganglionares autonómicas
PRH	Eminencia media del hipotálamo	
Encefalina, beta-END	Substancia gelatinosa, muchas otras partes del SNC, Sistema gastrointestinal	
Octapéptido de la colecistocinina (CCK)		Corteza cerebral
Péptido intestinal vasoactivo (PIV)		Hipotálamo, sistema gastrointestinal, nervios vasomotores
Neurotensina		Hipotálamo, sistema gastrointestinal
Bombesina		Hipotálamo, sistema gastrointestinal

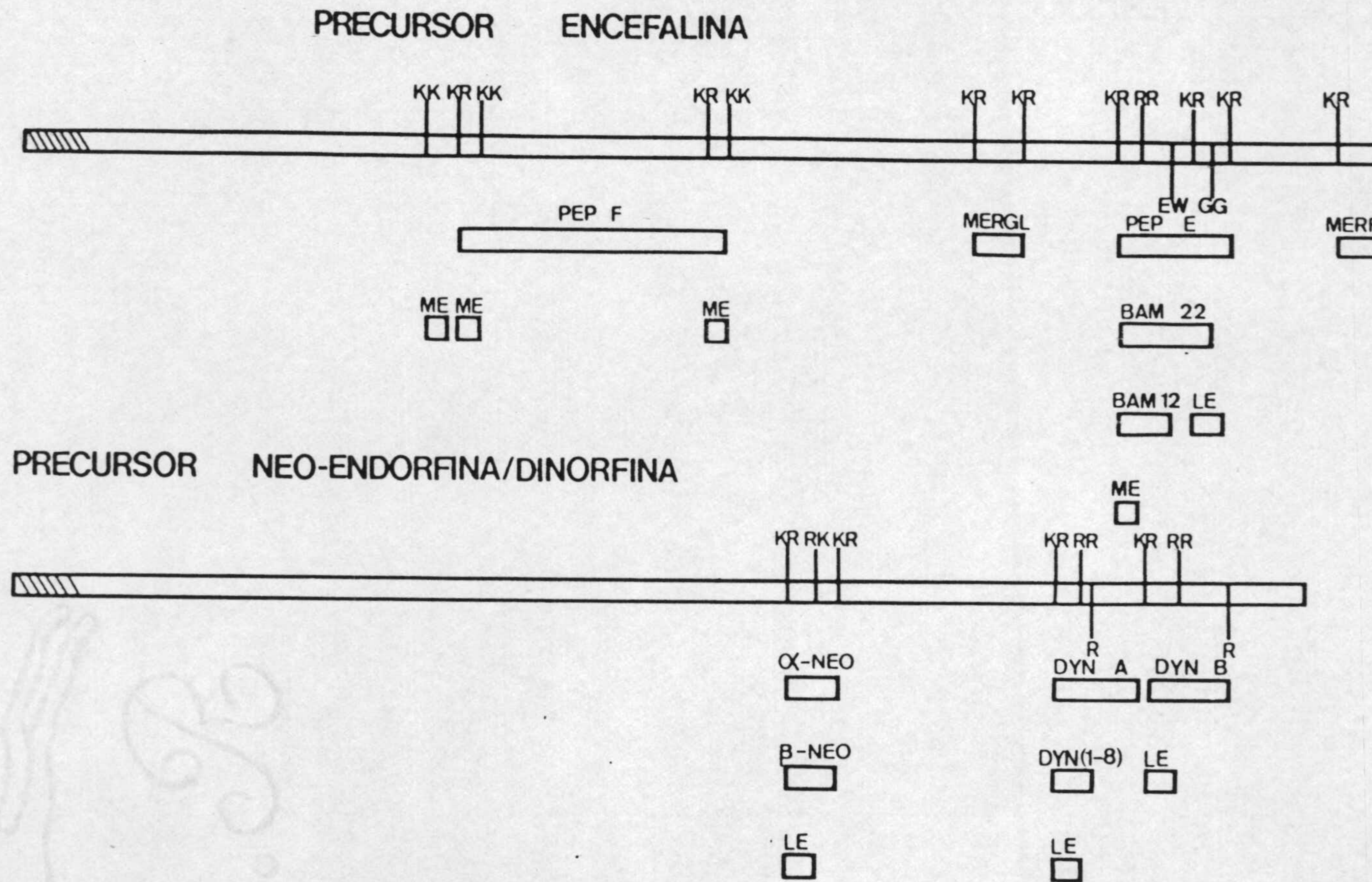
(Tomado de Ganong, 1.981)

(Figura 1)

El primer éxito experimental que permitió el aislamiento y caracterización de un factor con actividad similar a la morfina, fué debido a Hughes y colaboradores en 1.975. Estos investigadores describieron la estructura de un factor aislado del cerebro que denominaron encefalina y que mostró ser una mezcla de dos pentapéptidos: MET⁵- y LEU⁵-encefalinas con las secuencias que se muestran en la Figura 2.

Un sorprendente hallazgo evidenció que la estructura de la MET⁵-encefalina estaba contenida dentro de la fracción 61-65 de un péptido aislado anteriormente de 91 aminoácidos conocido con el nombre de Beta-Lipotropina (Hughes y col., 1.975 b), debiéndose su nombre a la actividad lipolítica que presenta en el tejido adiposo. En contra de las suposiciones iniciales, este péptido no parece ser el precursor de las encefalinas. Finalmente se observó que la ruptura enzimática de la beta-LPH daba origen a un fragmento peptídico que comprendía los aminoácidos 61-91 culminando así estas investigaciones con el hallazgo de un péptido con actividad opiácea mucho mayor a la mostrada por las encefalinas denominado beta-Endorfina (Li y Chung, 1.976; Bradbury y col. 1.976; Guillemin y col., 1.976; Ling y Guillemin, 1.976).

La historia del ACTH es bien distinta. En 1.930, P.E. Smith, (citado por Krieger y col. 1.980), demostró la presencia de un factor hipofisario que afectaba a la cápsula suprarrenal, la hormona adrenocorticotropica (ACTH). Era un pépti-



Representación esquemática de las moléculas precursoras de encefalinas y neo/dinorfinas. Leyenda: DYN=dinorfina; E=ácido glutámico; F=fenilalanina; G=glicina; K=lisina; L=leucina; LEU=leu-encefalina; ME=met-encefalina; NEO=neoendorfina; R=arginina; T=treonina; W=triptófano. (Tomado de Weber y col., 1.983).

(Figura 2)

do de cadena única que contenía 39 aminoácidos y presentaba actividad tanto adrenocorticotropica como melanotropica (White y Landmann, 1.955; Li y col., 1.955, citados por Krieger, 1.980). Estudios bioquímicos realizados en las tres últimas décadas han definido la estructura del ACTH y han llevado a cabo numerosas modificaciones de la hormona natural que han sido utilizadas en estudios de relaciones estructura-función (Ney y col., 1.964; Hoffman, 1.974). Así se ha encontrado que en todas las especies estudiadas, los 24 aminoácidos N-terminales son los mismos, existiendo pequeñas diferencias en la composición de la porción 25-39 de la molécula. El núcleo biológicamente activo del ACTH son sus 26 aminoácidos N-terminales, teniendo casi la misma potencia biológica que la hormona completa. La secuencia N-terminal de 17 aminoácidos tiene solo ya un 5% de la potencia de la molécula intacta. La supresión del aminoácido 17 dá como resultado la pérdida de un 50% de la actividad biológica. Siendo el fragmento más pequeño con actividad adrenocorticotropa que se ha encontrado en la secuencia de 10 aminoácidos N-terminales con solo un 0,002 del total de la molécula intacta. Variaciones de la porción N-terminal de la molécula ACTH, menores en comparación, pueden reducir drásticamente la potencia biológica. Los determinantes inmunológicos más potentes se sitúan en la cola carboxilica.

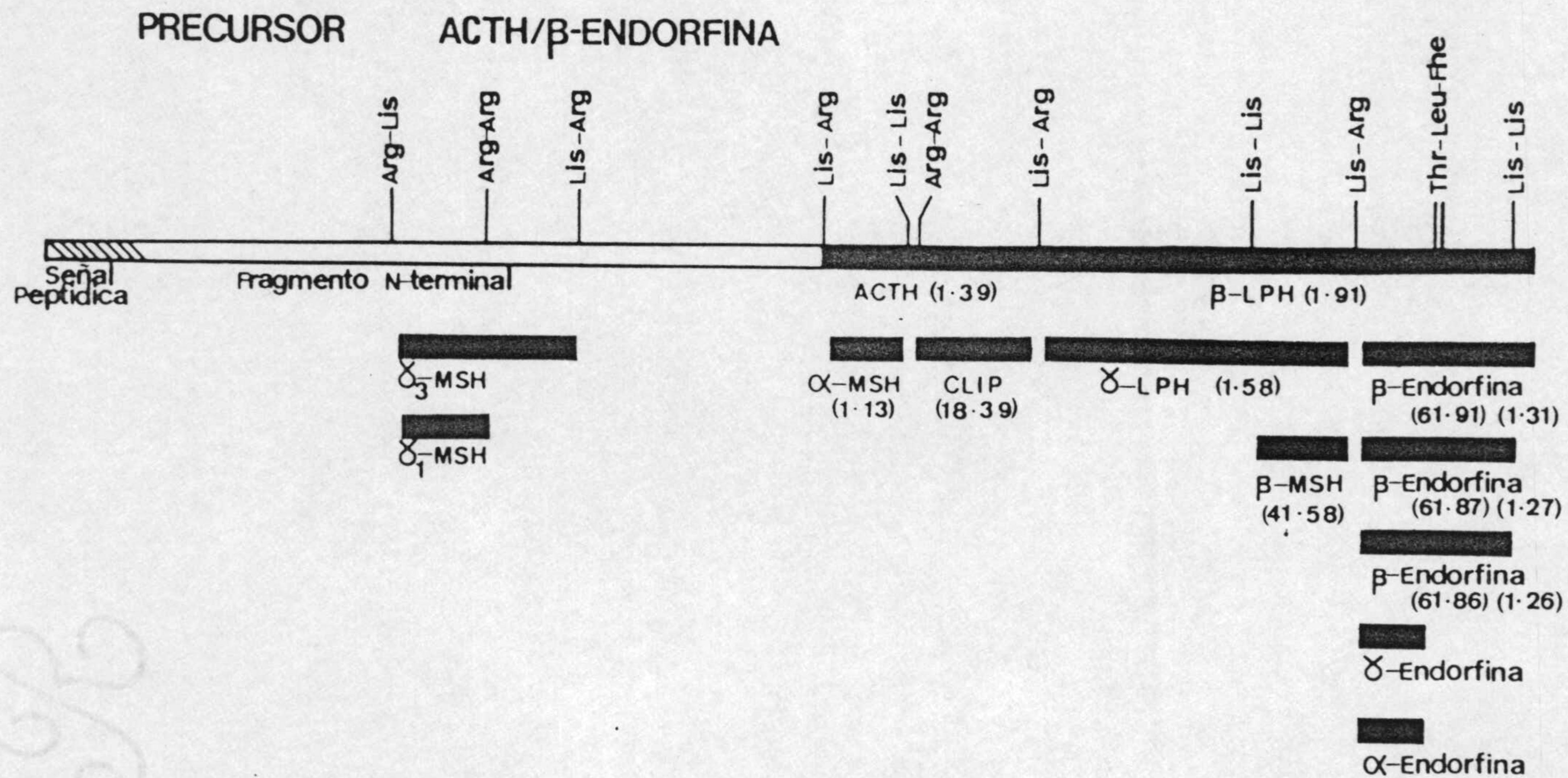
Hallazgos posteriores han puesto en evidencia la necesidad de reevaluar la naturaleza de la

molécula de ACTH y su papel fisiológico. Así las investigaciones llevadas a cabo por Eipper y Mains (Eipper y col., 1.976; Mains y col., 1.976) sobre la síntesis hipofisaria de ACTH, utilizando RNAm procedente de cultivo de células tumorales hipofisarias, ha revelado que el primer producto con inmunoreactividad ACTH tiene un peso molecular de 31.000. Este se transforma sucesivamente en uno de 23.000, otro de 13.000 y finalmente en la forma de ACTH biológicamente activa de peso molecular 4.500. Ahora parece evidente que el ACTH es sintetizado formando parte de una gran molécula precursora (Mains y col., 1.977; Roberts y Herbert, 1.977). Que también contiene la estructura de la beta-LPH. Adicionalmente, tanto el ACTH como la beta-LPH pueden servir, al menos teóricamente, como precursores de otros péptidos biológicamente activos (Figura 3).

1.1.1.- NOMENCLATURA

Debido a que los péptidos neuroactivos son sustancias de muy reciente descubrimiento y a que su número crece continuamente, no existe un acuerdo general que permita una denominación clara y precisa de cada péptido. Por tanto, la nomenclatura de estos péptidos es actualmente confusa y su clasificación difícil.

Centrándose en los péptidos opiáceos, la clasificación más sencilla está basada en la lon-



Representación esquemática de la estructura propuesta de la molécula precursora de ACTH y beta-END. (Modificada de Roberts y Herbert, 1.977; Weber y col., 1.983).

(Figura 3)

gitud de la cadena peptídica. Así, las Encefalinas son los péptidos de cadena más corta (5-7aa). Las Dinorfinas tienen una longitud intermedia (16-21 aa) y las Endorfinas tienen la cadena más larga de este grupo (unos 31 aa) (Figura 4). A su vez, cada grupo se subdivide en distintos subgrupos de acuerdo con sus características estructurales. Por ejemplo, en la hipófisis se han aislado cinco derivados endorfinérgicos: la beta-END (1-31) (que parece ser la más activa biológicamente) y los derivados suyos la beta-END (61-91), la beta-END (61-87), la alfa-END (61-76) y la gamma-END (61-77) (Ling y Guillemin, 1.976; Guillemin y col., 1.976) (Figura 3).

1.2.- BETA-END Y ACTH. ASPECTOS GENERALES

Recientes observaciones han sugerido que el ACTH y la beta-END se sintetizan conjuntamente; asimismo, ambos péptidos parecen ser liberados a la circulación conjuntamente como parte de la respuesta orgánica al stress (Fraoli y col., 1.980; Colt y col., 1.981; Carr y col., 1.981). También se ha sugerido que la beta-END y el ACTH son parte de un mismo sistema neuro-endocrino (Williams, 1.981). Estos aspectos son especialmente importantes en relación con el objetivo de este estudio, por lo que serán revisados en los apartados que siguen.

1.2.1.- BIOSINTESIS, TRANSFORMACION Y ALMACENAMIENTO DE BETA-END Y ACTH.

La existencia de gran número de péptidos biológicamente activos y el hecho de que la mayoría tienen una cadena aminoacídica corta llevó a una serie de preguntas fundamentales en lo referente a su biosíntesis. Actualmente se cree que provienen de un sillar biológico común, es decir, de macromoléculas proteícas. A partir de un precursor de cadena polipeptídica larga y biológicamente inactiva se van a originar, por diversos cortes enzimáticos a distintos niveles de la molécula precursora, los péptidos neuroactivos. Estos productos, a su vez, pueden sufrir una nueva proteólisis obteniéndose sucesivamente productos de hidrólisis de segundo, etc. ... grado, que finalmente serán los péptidos biológicamente activos (Hughes, 1.980). Esta proteólisis se verifica en puntos específicos, determinados por la estructura de la proteína precursora (Steiner, 1.976). A la serie de reacciones químicas que partiendo del precursor producen al péptido biológicamente activo se conoce como proceso post-traslacional (Hughes, 1.980).

Las enzimas proteolíticas parecen ser de naturaleza variada. No obstante, en aquéllos procesos que se verifican intracelularmente, como es el caso de los péptidos opiáceos y del ACTH, parece estar confirmada la idea de que las enzimas tienen una estructura química similar a tripsinas y carboxipep-

tidasas. En la Figura 4 se esquematiza este proceso.

1.2.1.1.- EN HIPOFISIS

La hipófisis es una glándula compleja formada por tres lóbulos: el lóbulo anterior, llamado adenohipófisis que constituye el 75% del peso total de la glándula y el lóbulo posterior o neurohipófisis. En la mayoría de los vertebrados se puede distinguir además el lóbulo intermedio, aunque esto no ocurre en el hombre adulto. No obstante sí está presente en la época fetal.

El péptido opiáceo endógeno beta-END y el ACTH provienen de una cadena polipeptídica de 264 aminoácidos, la proopiomelanocortina (POMC) (Nakanishi y col., 1.976; Mains y Eipper, 1.977, 1.979). Se ha logrado determinar la estructura aminoacídica casi completa de la Proopiomelanocortina identificándose así los lugares exáctos en los que se asientan los diferentes péptidos que la componen. Esto ha sido posible mediante:

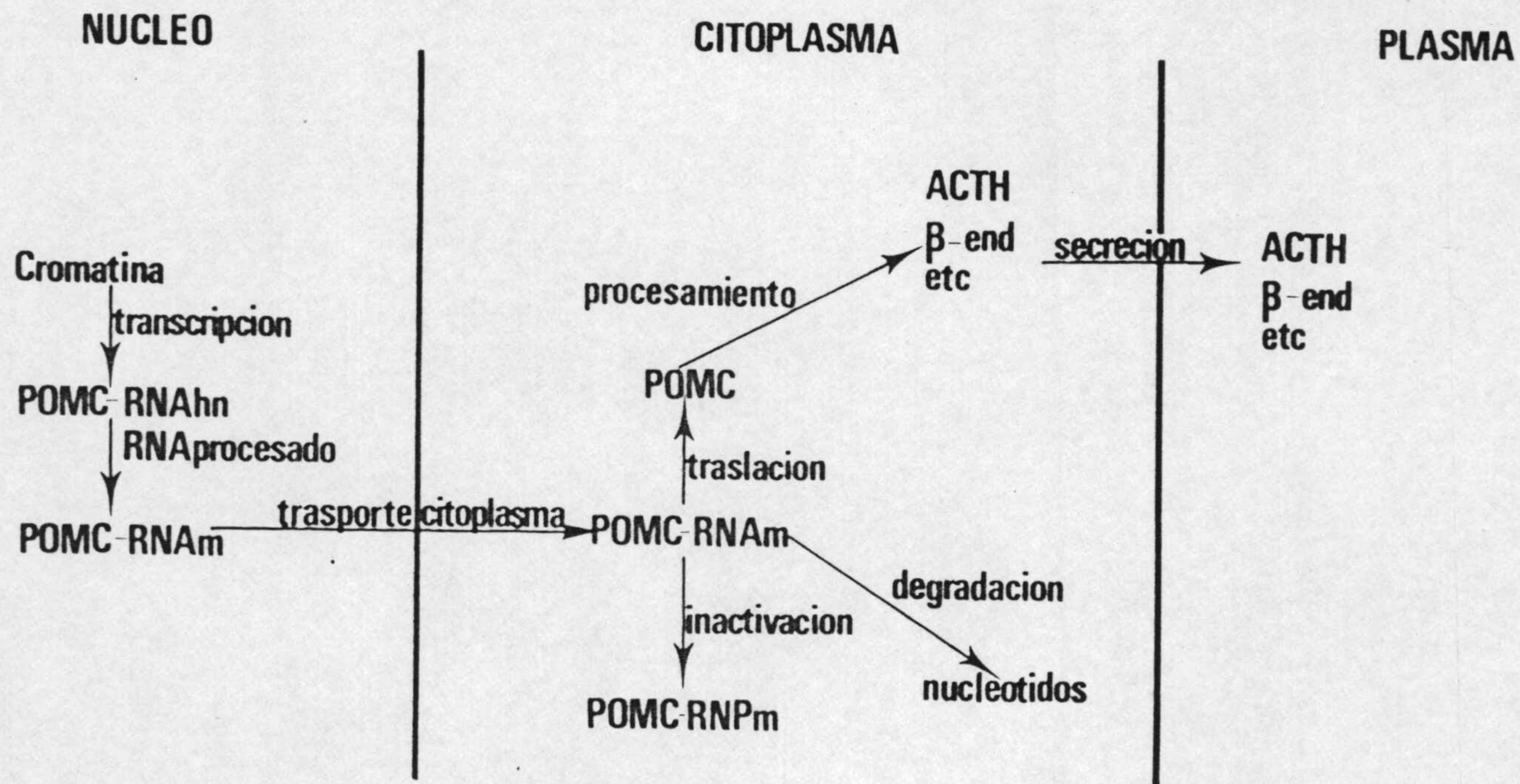
- 1º.- El conocimiento del código genético mediante el cual conocemos la expresión exácta de un nucleótido concreto en sus aminoácidos correspondientes y viceversa.
- 2º.- El aislamiento del RNAm codificante de la proopiomelanocortina en la pars intermedia de la oveja (Kita y col., 1.979).

3º.- Identificación de la secuencia nucleótida del DNA codificante del RNAm que sintetiza la molécula de la POMC (Nakanishi y col., 1.979).

Estos estudios han llevado a la conclusión de que la POMC están compuesta por unidades repetitivas flanqueadas a ambos lados por un par de residuos de aminoácidos básicos, que pueden ser potencialmente escindidos proteolíticamente para originar los péptidos componentes (Hughes, 1.980). En la Figura 5, se muestra la biosíntesis de la Proopiomelanocortina (POMC) (según Roberts y col., 1.982).

La ruptura enzimática de la POMC origina diversos péptidos como son beta-END, beta-Lipotropina, ACTH, gamma-LPH, alfa-MSH, CLIP, beta-MSH, gamma₃-MSH y gamma₁-MSH (Loh, 1.979; Zakarian y Smith, 1.979) (Figura 3). Esta ruptura de la molécula precursora es diferente dependiendo del tejido concreto en que se sintetice la beta-END y el ACTH. Así en el lóbulo anterior de la hipófisis de la rata encontramos ACTH, beta-LPH y beta-END (1-31) casi exclusivamente, sin embargo, el lóbulo intermedio contiene beta-END (1-26, 1-27), gamma-LPH, gamma-MSH, CLIP, y pequeñas cantidades de ACTH (1-39) y beta-LPH (Mains y Eipper, 1.979; McLoughlin y col., 1.981; Roberts y col., 1.982) (Figura 6).

En el hombre, el lóbulo anterior de la hipófisis hidroliza enzimáticamente a la molécula precursora POMC en beta-LPH y en un fragmento que in-



Proopiomelanocortina (POMC): Síntesis y procesamiento mediante el cual se producen dos de los péptidos biológicamente activos (ACTH y beta-END) objeto del presente estudio. (Tomado de Roberts y cols., 1.982).

(Figura 5)

cluye la ACTH (1-39) (Figura 6) (Liotta y Krieger, 1.980; Krieger y col., 1.981). La forma predominante de lipotropina es la beta-LPH, que representa el 90% de todas ellas (Krieger y col., 1.981). También se encuentra beta-END, aunque a una concentración diez veces menor que la de beta-LPH (Krieger y col., 1.981). Esta forma de beta-END hipofisaria y consecuentemente plasmática es posible que sea la 1-31 al tener igual origen que en la rata (Mains y Eipper, 1.979; McLoughlin y col., 1.981; Roberts y col., 1.982).

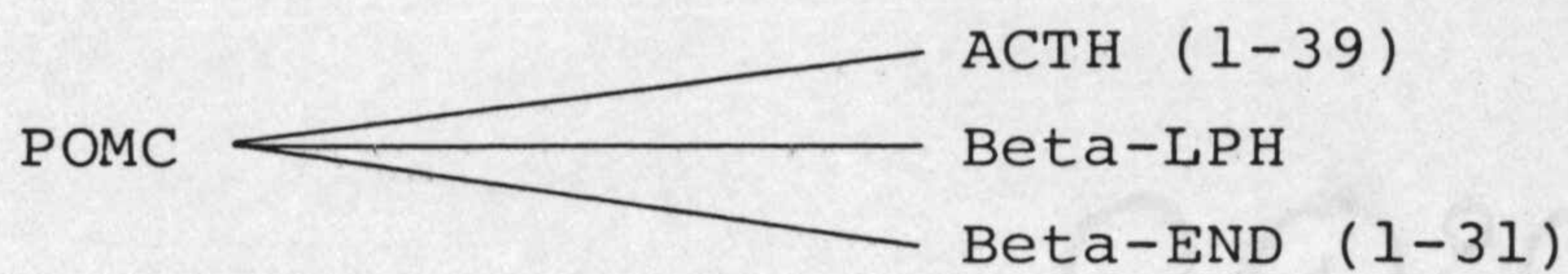
Diferentes autores han llamado la atención en el sentido de que el lóbulo posterior humano emite proyecciones irregulares de invasión basófila sobre el lugar donde deberíamos encontrar la pars intermedia, queriendo ver así un rudimentario lóbulo intermedio humano (Morris y col., 1.956; Kinserman y col., 1.976, citados por Krieger y col., 1.980). A pesar de ello se considera que en el hombre adulto no existe lóbulo intermedio (Liotta y col., 1.978 a), de esta forma solo se consideran presentes en el hombre adulto las formas secretadas por el lóbulo anterior (Krieger y col., 1.981). En la figura 7 se muestran diferentes modelos experimentales en relación con la biosíntesis de beta-END.

1.2.1.2.- EN CEREBRO

Actualmente se van acumulando cada vez más pruebas a favor de una síntesis neuronal de

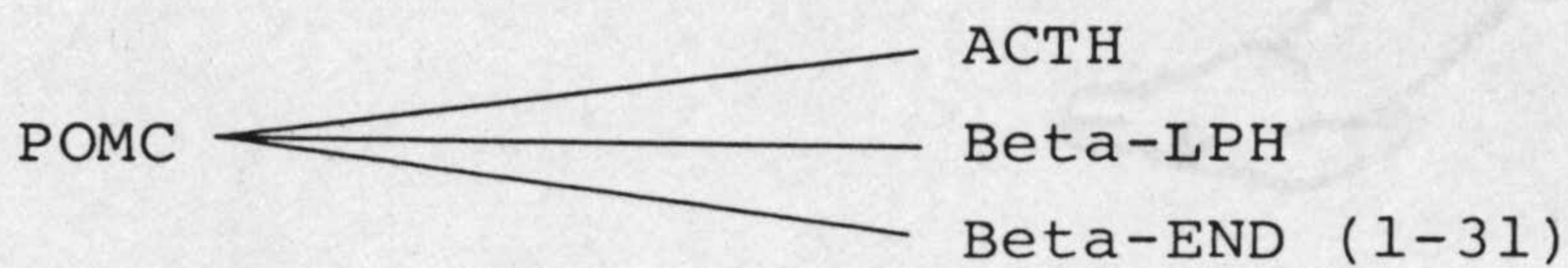
H O M B R E

LOBULO ANTERIOR

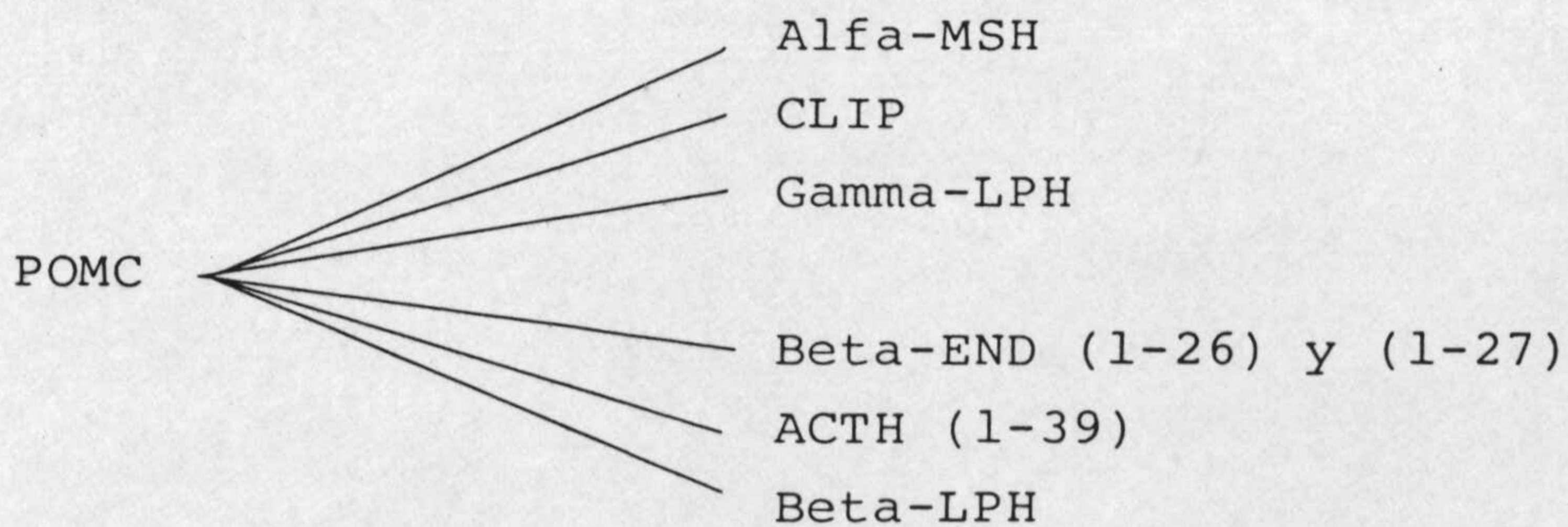


R A T A

LOBULO ANTERIOR



LOBULO INTERMEDIO



(Figura 6)

SISTEMAS EXPERIMENTALES EN LOS QUE
SE HA ESTUDIADO LA BIOSÍNTESIS DE
BETA-ENDORFINA

<u>Sistemas experimentales</u>	<u>Referencia bibliográfica</u>
Hipófisis (oveja)	Nakanishi y col., 1.977.
Hipotálamo (oveja)	Liotta y col., 1.979.
Tumor hipofisario, atT-20 (ratón)	Mains y col., 1.977.
Pars intermedia (rata)	Crine y col., 1.977/78.
Carcinoma pulmonar (hombre)	Bertagna y col., 1.978.
Placenta e hipófisis (hombre)	Liotta y Krieger, 1.980.

Figura 7.- Tejidos y especies en los que se ha estudiado la biosíntesis de beta-END. (Modificado de Frederickson y Geary, 1.982).

beta-END y ACTH. Esta idea se inició al descubrirse beta-LPH cerebral (La Bella y col., 1.977; Watson y col., 1.977). Estudios inmunocitoquímicos revelaron la presencia de beta-END y ACTH en axones y cuerpos neuronales (Hökfelt y col., 1.980; Krieger y col., 1.980; Watson y col., 1.980, 1.981). Esto fué corroborado posteriormente mediante la destrucción del núcleo arcuato del hipotálamo administrando glutamato monosódico a ratas neonatales. Mediante esta técnica se suprime la fuente de beta-END y ACTH. Tras la destrucción hipotalámica se observó un sensible descenso en los niveles de ACTH y beta-END en diversas regiones cerebrales, lo que sugiere que el origen cerebral de estos péptidos se encuentra en el hipotalamo (Krieger y col., 1.979).

Estudios posteriores corroboraron esta idea. Así, tras administrar colchicina intraventricularmente (que inhibe el transporte axonal en la red de microtubulos citoplasmáticos) se demostró inmunocitoquimicamente una mayor tinción en los cuerpos neuronales del núcleo arcuato (Bloom y col., 1.978; Watson y col., 1.978; Krieger y col., 1.980). Esta observación parece confirmar la biosíntesis cerebral de ACTH y de la beta-END en el núcleo arcuato a partir de este núcleo se produce la inervación endorfinérgica y ACTH-érgica de las demás regiones cerebrales (Jacobowitz y O'Donahue, 1.978; Krieger y col. 1.980). Por otra parte, se ha descrito que los cerebros de animales hipofisectomizados no muestran ningún cambio en la distribución e intensidad del teñido

inmunocitoquímico de ACTH y beta-END. Esto apoya la idea de que la fuente cerebral de estos péptidos no es hipofisaria sino hipotalámica (Cheung y Goldstein, 1.976; Rossier y col., 1.977 a; Watson y col., 1.978; Bloom y col., 1.978).

Una prueba demostrativa de la síntesis intracerebral de ACTH se ha realizado incubando células hipotalámicas de rata (Krieger y col., 1.980), cultivando estas células en presencia de aminoácidos marcados con tritio. Se observó la síntesis de compuestos de alto peso molecular con tritio marcado y conteniendo los dos determinantes antigenicos del ACTH y beta-END dentro de la misma molécula. Hay que hacer mención de que estas preparaciones de células hipotalámicas de oveja y rata estaban esencialmente desprovistas de procesos axonales o dendríticos. Otros estudios realizados en células procedentes del núcleo arcuato y de áreas hipotalámicas basales medias de rata recién nacida, han mostrado que tras ser cultivadas estas células en un medio que contenía ³⁵S Metionina durante cuatro días (desarrollando así las células procesos axonales y dendríticos) se sintetizaron proteínas de alto peso molecular, así como ACTH (Liotta y cols., 1.980).

Ante esta serie de observaciones, todo hace pensar que la síntesis de la POMC se realiza en el cuerpo neural de las células del núcleo arcuato y es almacenada dentro de los gránulos secretorios. Como ocurría en la hipófisis, el procesamiento

de la POMC es diferencial según consideremos un área cerebral u otra, siendo la beta-END predominante en el hipotálamo la (1-31), encontrando en cerebro medio beta-END (1-26) y (1-27) mayoritariamente (Smith y Zakarian, 1.980). Estos estudios, no obstante, no descartan la existencia de otros núcleos o vías cerebrales que sinteticen o liberen ACTH y beta-END.

1.2.2.- DISTRIBUCION TISULAR DE BETA-END Y ACTH

1.2.2.1.- HIPOFISIS

Estudios realizados por medio de radioinmunoanálisis, así como otros estudios inmunocitoquímicos, han detectado elevadas concentraciones de beta-END y ACTH, además de beta-LPH, en la adenohipófisis de rata. Por otro lado, en el lóbulo intermedio se han detectado fundamentalmente beta-END, alfa-MSH y CLIP junto con pequeñas concentraciones de ACTH (Rossier y col., 1.979; Liotta y col., 1.978 b; Frederickson y Geary, 1.982). Las concentraciones de beta-END son mucho más altas en el lóbulo intermedio que en la adenohipófisis (Bloom y col., 1.978; Liotta y col., 1.978 b; Zakarian y Smith, 1.979).

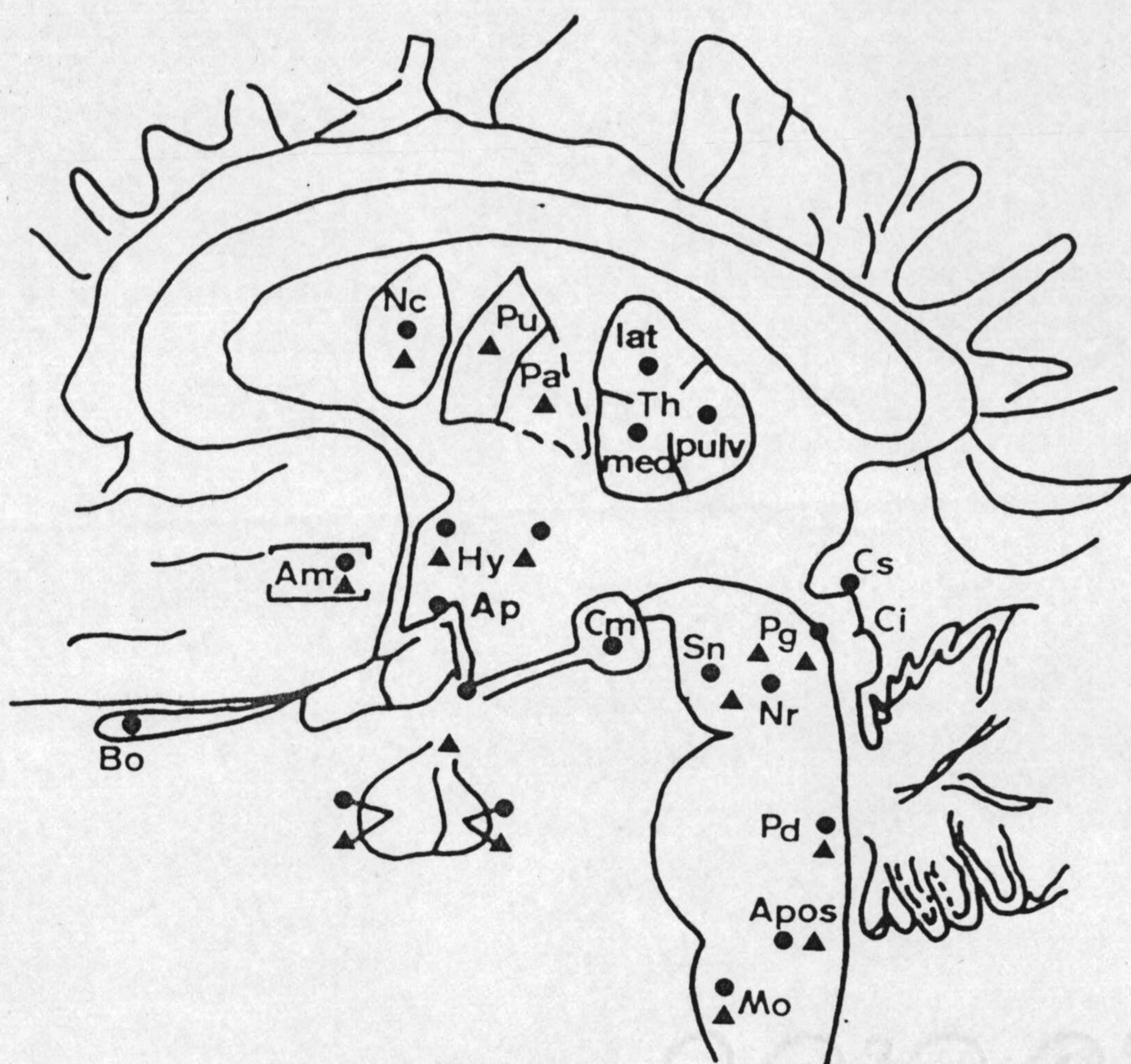
En la hipófisis humana del adulto se detecta preferentemente beta-LPH, ACTH y beta-END en la adenohipófisis. Recientemente algunos autores han descrito la presencia de beta-END en la neurohipófi-

pófisis (Herz , 1.981; Clement-Jones y col., 1.982) (Figura 8).

1.2.2.2.- CEREBRO

Debido a su potencial importancia fisiológica, se han realizado gran número de estudios en relación con la distribución de los receptores opiáceos. Se han observado péptidos opiáceos endógenos en áreas cerebrales específicas, que se cree están relacionadas con: a) la percepción del dolor (lámina I y II de la médula espinal, núcleo trigeminal espinal, sustancia gris periacueductal y periventricular y el núcleo medular del rafe); b) motilidad, estado anímico y comportamiento (globus pallidus, estria terminalis y locus coeruleus) y c) regulación de funciones neuroendocrinas (eminencia media).

Estudios mediante radioinmunoensayo (Rossier y col., 1.977 a), técnicas inmunocitoquímicas (Bloom y col., 1.978) y técnicas "in vitro" (Liotta y col., 1.979) coinciden en que la beta-END y el ACTH se encuentran y se sintetizan en las neuronas de la región basal hipotalámica principalmente en el núcleo arcuato (Zimmerman y col., 1.978). Desde aquí van a partir numerosas fibras conteniendo beta-END y ACTH que van a inervar a distintas áreas cerebrales. A través de la eminencia media, las fibras van a proyectarse hasta el talamo (Bloom y col., 1.978; Krieger y col., 1.979). Otras fibras inervan la amígdala, el área pre-óptica, los núcleos ventro-



Corte sagital de cerebro humano mostrando la distribución anatómica de beta-END (puntos) y la de encefalinas (triángulos). Leyenda: AM=amígdala; Ap=a.preóptica; Apos=a.postrema; Bo=b.olfatorio; Cm=c.mamilares; Cs y Ci=colículos superiores e inferiores respectivamente; Hy=hipotálamo; Nc=n.caudado; Nr=n.rojo; Pa=pálido; Pd=p.dorsal; Pu=putamen; Pg=s.g.periacueductal; Th=tálamo; Sn=s.negra. (Tomado de Herz, 1.981).

(Figura 8)

mediales, núcleo paraventricular, sustancia gris periacueductal, formación reticular y estría terminal (Rossier y col., 1.977 a). Fibras descendentes van a inervar a la sustancia negra y locus coeruleus (Morley, 1.981), así como puente y médula (Gramsch y col., 1.979). La reactividad encontrada en médula para el anticuerpo anti-beta-END es mayor que para el anticuerpo anti-ACTH (Pelletier y Leclerc 1.979) (Figura 9).

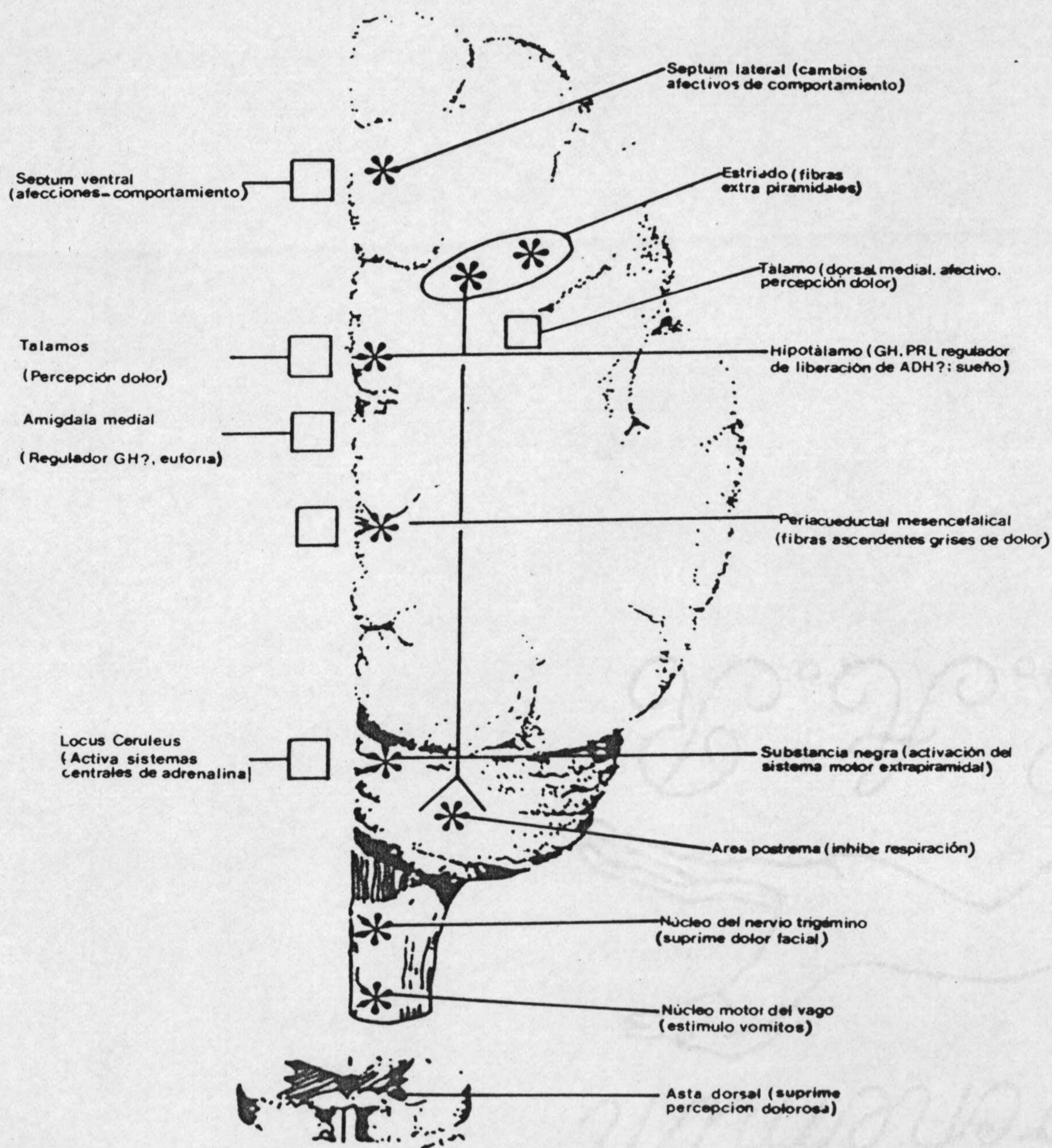
1.2.2.3.- OTROS TEJIDOS

En los años cincuenta varios estudios sugirieron la presencia de compuestos del tipo ACTH bioactivo en extractos de placenta. Posteriormente diversos estudios (Rees y col., 1.975; Odagiri y col. 1.979) han confirmado la presencia de ACTH placentario. El modelo de síntesis a partir de la molécula precursora parece ser próximo al descrito para el lóbulo intermedio y cerebro (Krieger y col., 1.980).

En la rata, se ha encontrado material beta-Endorfinérgico, además de en los tejidos ya mencionados en los lóbulos anterior e intermedio y cerebro (Barchas y col., 1.978) y en los órganos reproductores de machos adultos (Clement-Jones y col., 1.982).

En el hombre se ha detectado inmunoreactividad para la beta-END en el tracto gastrointes-

DISTRIBUCION ESQUEMATICA DE β -ENDORFINA, ACTH
Y PEPTIDOS RELACIONADOS EN EL CEREBRO DE
RATA



(Diagrama modificado de Barchas, 1.978).

(Figura 9)

tinal y en la glándula tiroides (Kendall y col., 1.980), así como en el páncreas (Bruni y col., 1.979), y en placenta (Odagiri y col., 1.979; Liotta y Krieger, 1.980). De igual forma, se ha detectado la presencia de material beta-END en LCR y en plasma (Ver 1.3) (Figura 10).

Parece que existen también receptores para el ACTH en el tracto gastro-intestinal, fundamentalmente en la capa mucosa con altas concentraciones en duodeno e ileo proximal y más bajas concentraciones en el antro (Larsson, 1.977). Posteriormente, también se han demostrado receptores para el ACTH en páncreas (Larsson, 1.978, citado por Krieger, 1.980).

El ACTH es, a veces, segregado de forma semiautónoma por tumores con distintas localizaciones extrahipofisarias. Estos tumores parecen segregar ACTH en respuesta a stress quirúrgicos fuertes y parecen escapar a la influencia de los ritmos circadianos, así como en raras excepciones no parecen estar influenciados por los niveles de corticosteroides circulantes (Williams, 1.981).

1.2.3.- ACCIONES

Se ha observado que la beta-END, así como la MET-enkefalina inyectadas centralmente producen analgésia y otros efectos sobre el comportamiento comunes a los producidos por la morfina. Su administración a bajas dosis aumenta la actividad,

DISTRIBUCION TISULAR DE BETA-ENDORFINA
EN EL HOMBRE Y EN LA RATA

H O M B R E

<u>Hipófisis</u>	<u>Cerebro</u>	<u>Otros tejidos</u>
Lóbulo anterior	Núcleo caudado	Tracto gastro-intestinal
Beta-endorfina (1-31) ?	Tálamo	
	Amígdala	
Lóbulo posterior	Hipotálamo	Páncreas
	Beta-endorfina (1-31)	Glándula tiroides
		Placenta
	Area postrema	
	Cuerpos mamilares	
	Bulbo olfatorio	
	Beta-endorfina (1-26) y (1-27)	
	Substancia negra	
	S.gris periacueductal	
	Puente dorsal	
	Médula oblonga	

R A T A

Lóbulo anterior	Núcleo accumbens	Testículos
Beta-endorfina (1-31)	Tálamo	Próstata
	Hipotálamo	Vesículas seminales
Lóbulo intermedio	Locus coeruleus	
Beta-endorfinas (1-26) y (1-27)	S.gris periacueductal	
	Formación reticular	

(Tomado de Krieger y Liotta, 1.979; Rossier y col. 1.977; Bloom y col., 1.978; Gransch, 1.979; Herz, 1.981; Clement-Jones y col., 1.982; Frederickson y Geary, 1.982; Weber y col., 1.983)

(Figura 10)

mientras que altas dosis producen sedación y euforia (Koob y col., 1.983).

La analgesia es mediada principalmente por receptores μ en el cerebro, mientras que en la médula espinal parece estar mediada por receptores del tipo κ .

En el músculo liso de tejidos periféricos aislados, se ha descrito que los opiáceos inducen una inhibición dosis dependiente de las contracciones inducidas eléctricamente.

1.2.4.- RECEPTORES

Desde el punto de vista cronológico, el receptor opiáceo es el primer protagonista de la reciente historia de las endorfinas (Pert y Snyder, 1.973). En la actualidad estudios farmacológicos, bioquímicos y conductuales indican la existencia de al menos cuatro tipos distintos de receptores opiáceos: μ , δ , κ y σ . La gran variedad de acciones neurofarmacológicas de los opiáceos exógenos, así como las de los tres grandes grupos de opiáceos endógenos (Endorfinas, Encefalinas y Dinorfinas) parece ser debida a la interacción simultánea con más de un tipo de estos receptores (Zukin y Zukin, 1.984).

Evidencias bioquímicas, farmacológicas

y conductuales indican que los opiáceos ejercen un amplio espectro de acciones psíquicas por interacción con los receptores opiáceos μ , δ y κ (Zukin y Zukin, 1.984). Algunos autores no consideran al receptor σ como receptor opiáceo debido a que las acciones mediadas por él no son revertidas por naloxona. Parece, por tanto, que los tres grupos funcionales más importantes de receptores opiáceos son los μ con un 22%, los δ con un 36% y los κ con un 42% del total de la población receptora opiácea (Kosterlitz y Paterson, 1.980).

Los receptores μ están definidos como los de mayor afinidad, y parece ser los mediadores de la analgésia producida por los opiáceos exógenos. Los receptores δ están definidos farmacológicamente como los de mayor afinidad por las encefalinas. Estos receptores se localizan preferentemente en tejidos periféricos tal como los vasos deferentes del ratón (Lord y col., 1.977) aunque también se encuentran en el SNC (Chang y col., 1.979).

Los receptores κ son los que tienen mayor afinidad por los opiáceos similares a la cetociclazocina. Su activación produce analgésia, sedación y ataxia (Gilbert y col., 1.976; Martin y col., 1.976). Recientemente ha sido definido como un receptor altamente selectivo para la dinorfina (Chavkin y cols., 1.982).

Las acciones mediadas por estos tres

tipos de receptores (μ , δ y κ) se revierten al administrar naloxona, requiriéndose dosis crecientes de este fármaco para revertir los efectos mediados por los receptores μ , δ y κ respectivamente.

En resumen, los opiáceos endógenos y exógenos parece que interactúan con más de un tipo de receptor. Las acciones farmacológicas de un opiáceo dado reflejarían, por tanto, su potencia para estimular a una combinación de receptores μ , δ , κ y σ .

1.2.4.1.- DISTRIBUCION TISULAR DE LOS RECEPTORES OPIACEOS

Existen regiones nerviosas y tejidos altamente específicos que solo contienen un tipo de receptor. Por el contrario, otras áreas contienen más de un tipo, aunque siempre hay predominio de uno de ellos. De hecho, los tres mayores grupos de receptores están presentes en el SNC y periférico, aunque presentan una distribución diferencial (Figura 11).

En el cerebro de la rata, y en términos muy generales, se pueden distinguir tres zonas: zona I, de predominio claro del receptor μ , que abarca el tálamo e hipotálamo. Zona II, de predominio intermedio de el receptor μ , que comprende el tronco del encéfalo, hipocampo y sistema límbico. Por último la zona III, de escaso predominio del receptor μ , que

T E J I D O	TIPO DE RECEPTOR
<u>SNC</u>	
(Cerebro de rata)	
Tálamo, Hipotálamo	$\mu > \delta$
Núcleo estriado	$\delta > \mu$
Hipocampo	$\kappa, \sigma > \mu$
(Cerebro de cobaya)	
Cortex frontal	
Capas V y VI	$\kappa \gg \mu$
(Cerebro de sapo)	
	κ
<u>SNP</u>	
Ileum de cobaya)	μ, κ
Vaso deferente de ratón	μ, δ, κ
Vaso deferente de conejo	κ
<u>VIAS CELULARES NEURONALES</u>	
N 4 G+1	δ
NCB 20	δ, κ, σ

(Tomado de Zukin, 1.984)

(Figura 11)

abarca el cortex y estriado (Chang y Cuatrecasas, 1.981). Un estudio regional detallado indica que los receptores μ abundan en zonas relacionadas clásicamente con la analgésia. Estas regiones, por el contrario, contienen muy pocos receptores δ , a excepción de la sustancia gelatinosa. Dichos receptores δ se concentran en zonas del sistema límbico asociadas con el control de las emociones. Por esta razón, los receptores μ se relacionan con los efectos analgésicos mediados por los compuestos opiáceos, mientras que los receptores δ se asocian a los efectos euforizantes mediados por encefalinas (Chang y Cuatrecasas, 1.981). La beta-END parece tener igual afinidad a ambos tipos de receptores (Chang y col., 1.980).

En el hombre también se ha investigado la distribución en el SNC de los receptores opiáceos (Pfeiffer y col., 1.982). Estos investigadores demostraron que los receptores κ y μ son los tipos más abundantes en casi todo el cerebro, mientras que los lugares δ son mínimos en número. Cada grupo parece tener un patrón de distribución distinto, lo que sugiere que ésta es independiente. El modelo de distribución en el cerebro humano se asemeja al de la rata, aunque los receptores más importantes parecen ser los κ y los de menor importancia los δ (Pfeiffer y col. 1.982).

Los receptores opiáceos μ , δ y κ poseen las características comunes a otros receptores,

es decir: 1) son proteínas diferentes entre sí y de distinto peso molecular; 2) representan formas interconvertibles de una misma proteína; 3) los tipos de receptores pueden resultar de una misma cadena polipeptídica por modificación post-traslacional (Bowen y col., 1.981).

1.2.5.- TRANSFORMACION EXTRACELULAR

Se ha sugerido la posibilidad de que la ruptura proteolítica pueda verificarse extracelularmente, pudiendo ocurrir esto en la circulación periférica o en órganos diana (Krieger y col., 1.980). Estos procesos serán analizados con mayor detalle en el apartado 1.3. dedicado a beta-END y ACTH en plasma.

1.2.6.- REGULACION DE LOS NIVELES CIRCULANTES DE BETA-END Y ACTH

1.2.6.1.- EN LA BIOSINTESIS

Existen numerosos factores reguladores de la biosíntesis de la POMC, actuando de forma diferente según donde ejerzan su acción, en el lóbulo anterior de la hipófisis o en el intermedio. Así, en el lóbulo anterior los glucocorticoides inhiben la biosíntesis de la POMC, mientras que en la pars intermedia los glucocorticoides no afectan al proceso biosintético

de la POMC (Roberts y col., 1.982). El factor liberador de corticotropina (CRF) (Roberts y col., 1.982) aumenta la síntesis de la POMC en el lóbulo anterior, no ejerciendo esta acción en el lóbulo intermedio (Vale y col., 1.981). La dopamina a concentraciones fisiológicas inhibe la biosíntesis de la POMC en el lóbulo intermedio. Esto se realiza a través de axones dopaminérgicos, no afectando a la biosíntesis en el lóbulo anterior (Thody, 1.980, citado por Roberts y col., 1.982). El ciclo luminoso (fotoperiodo), estrógenos, vasopresina y los mineralocorticoides han mostrado su capacidad de regular la biosíntesis de la POMC en ambos lóbulos (intermedio y anterior) (Thody, 1.980, asimismo citado por Roberts y col., 1.982).

1.2.6.2.- EN LA LIBERACION

En estudios sobre adenohipófisis de rata, se comprobó que el factor CRF estimula la liberación concomitante de ACTH, beta-LPH y beta-END, estando esta liberación inhibida por tratamiento previo con dexametasona (Vale y col., 1.981). En el lóbulo intermedio, la secreción de beta-END debe estar regulada de diferente forma ya que el factor hipotalámico CRF y los esteroides adrenales parecen no influir. El factor más importante que actúa inhibiendo la liberación de beta-END sobre el lóbulo intermedio es la dopamina (Vermes y col., 1.980; Vale y col., 1.981).

Los niveles de ACTH, beta-LPH y beta-END cerebrales, parecen estar regulados por procesos independientes. Así, la hipofisectomía o el tratamiento con corticosteroides no parecen afectar a los niveles hipotalámicos de ACTH ni a las concentraciones globales de beta-END en cerebro (Rossier y col., 1.979). Sin embargo el tratamiento dilatado con opiáceos parece disminuir la concentración de beta-END en hipófisis y cerebro (Hollt y col., 1.978). De cualquier forma aún no están demostrados con toda claridad los mecanismos reguladores que controlan la liberación de los diferentes péptidos originados a partir de la POMC, siendo por tanto un aspecto muy importante que aún queda por investigar.

1.3.- BETA-END Y ACTH EN PLASMA

Existen numerosas evidencias sugiriendo que la fuente de beta-END y ACTH circulantes se encuentra en la hipófisis. Los niveles más altos del organismo, tanto del precursor común como de estos péptidos, se encuentran en la hipófisis (Guillemin, 1.980). Tras la hipofisectomía los niveles circulantes de ambos péptidos son indetectables (Rossier y col., 1.977 b). Guillemin y su grupo (1.977) han demostrado que, in vivo, beta-END y ACTH son secretadas simultáneamente por la hipófisis en respuesta al stress agudo. Asimismo, las sustancias que alteran la liberación de ACTH producen un efecto similar

sobre la beta-END circulante (Vale y cols., 1.978).

Pero a pesar de estar bien establecido el origen hipofisario de estos péptidos, existe un hecho interesante. Las proporciones existentes en la hipófisis entre el ACTH, beta-LPH y beta-END difieren de las presentes en la circulación periférica. Los niveles de beta-END circulante son proporcionalmente mayores que los existentes en la hipófisis, a la vez que los beta-LPH son menores. Esto se cree que es debido a que en el plasma se escinde la beta-LPH en gamma-LPH y beta-END (Krieger y col., 1.980). Otra hipótesis que puede explicar estas observaciones está basada en el hecho de que la vida media de la beta-END es mayor que la de beta-LPH y ACTH. Esto originaría unos niveles de beta-END circulantes proporcionalmente mayores que los de ACTH, aunque la relación existente entre sus respectivos niveles fuera opuesta en el momento de su secreción (Krieger y col., 1.971; Liotta y col., 1.978 b; Krieger y col. 1.979 a).

Además se ha observado que la estimulación hipofisaria aguda origina un descenso en la relación gamma-LPH/beta-LPH, lo cual podría indicar que la beta-LPH es la forma de lipotropina predominante segregada por la hipófisis anterior bajo condiciones de estimulación aguda, y la conversión en gamma-LPH y beta-END tendría lugar en la circulación periférica o en órganos diana (Krieger y col., 1.980).

La transformación del péptido precursor podría depender de los glucocorticoides, ya que se ha demostrado que tienen unos marcados efectos a nivel de membrana. Así, se ha descrito que alteran la actividad de los enzimas asociados a la membrana previniendo los efectos de los agentes que liberan enzimas lisosomales (Thompson y Lippman, 1.974). En presencia de concentraciones decrecidas de glucocorticoides es posible que tengan lugar formas de transformación proteolítica diferentes a las que ocurren en condiciones basales (Krieger y col., 1.980).

Aunque existe una gran variabilidad individual, se ha sugerido que distintos estados patológicos o situaciones stresantes podrían influir alterando la relación ACTH/beta-END/beta-LPH. Esto podría tener un significado fisiológico, representando una adaptación del organismo no solo a una demanda metabólica distinta, sino también a unas condiciones psíquicas especiales.

1.3.1.- BETA-END EN PLASMA

1.3.1.1.- VALORES NORMALES EN EL ADULTO

La determinación de niveles plasmáticos reproducibles de beta-END en sujetos normales es reciente. Desde hace algunos años, distintos laboratorios han desarrollado diferentes técnicas que permiten distinguir analíticamente a la beta-END de otros

péptidos derivados de la proopiomelanocortina. En el capítulo de Discusión de esta tesis se analizarán, de modo crítico, las distintas técnicas para determinar los niveles de beta-END en plasma. No obstante, se incluye a continuación una tabla resumida con los valores basales de beta-END en plasma de sujetos normales, según ha sido referido en la literatura.

NIVELES BASALES DE BETA-END EN PLASMA (pmol/l)

<u>beta-END</u>	<u>Referencia Bibliográfica</u>
menor 2,5	Suda y col., 1.978.
1,7	Nakao y col., 1.978.
menor 0,88-0,91	Nakao y col., 1.978.
6,2	Warlaw y Frantz, 1.979.
4,7	Hollt y col., 1.979.
1,47-13,2	Weideman y col., 1.979.
7,08	Ghazarrosian y col., 1980.
2,29	Yamaguchi y col., 1.980.
menor 0,73-3,32	Nakao y col., 1.980.
0,64-44	Krieger y col., 1.981.

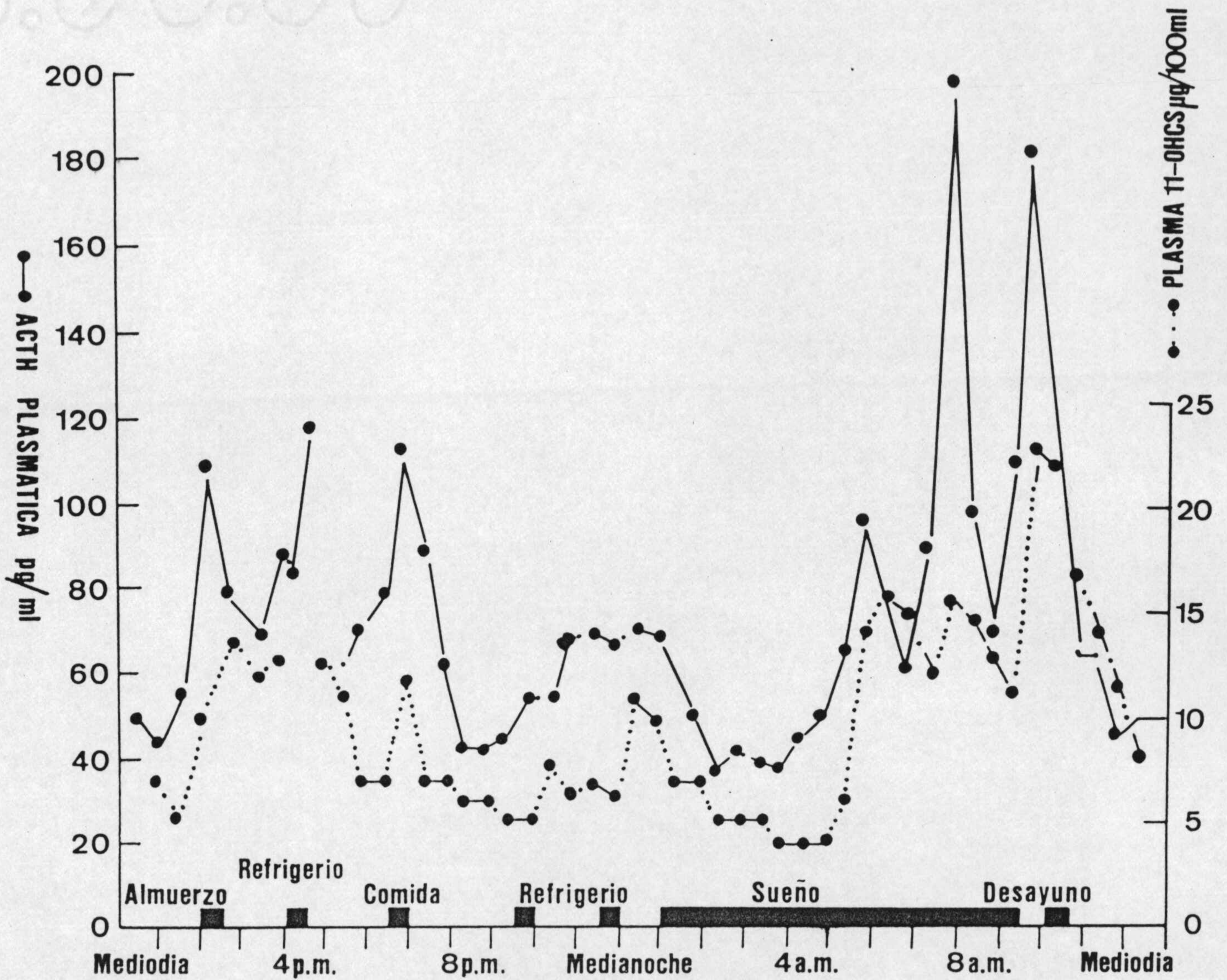
1.3.1.2.- VARIACIONES FISIOLÓGICAS DE LOS VALORES NORMALES EN EL ADULTO

1.3.1.2.1.- Ritmos circadianos

Puesto que parece evidente que la ACTH y la beta-END se secretan concomitantemente (ver apartado 1.4.2.2), parece lógico pensar que ambas hormonas estén sometidas a un mismo ritmo de secreción. Desde hace tiempo se conoce el ritmo circadiano que rige la liberación de ACTH (Figura 12) (Ganong, 1.981). Este presenta un pico máximo en las primeras horas de la mañana hasta el mediodía, descendiendo irregularmente hasta sus niveles más bajos durante la noche. Diversos trabajos han descrito que la beta-END puede muy bien seguir este mismo ritmo circadiano (Dent y col., 1.981; Naber y col., 1.981 a y b), otros autores parecen solo sugerirlo (Krieger y col., 1.981). Efectivamente se detectan altas concentraciones de beta-END en las primeras horas de la mañana, estando unida esta elevación a una menor sensibilidad al dolor, encontrando disminuidos dichos niveles en las últimas horas del día (Mullen y col., 1.979; Frederickson y Geary, 1.982).

1.3.1.2.2.- En el stress

El hecho de que la ACTH y la beta-END se encuentren juntas en las mismas células de la adenohipófisis (Guillemin y col., 1.977), así como que



Variaciones de el ACTH y de los glucocorticoides plasmáticos durante el día. (Tomado de Ganong, 1.981).

(Figura 12)

éstas se secreten mediadas por los mismos mecanismos reguladores (ver apartado 1.2.3.2) sugiere la posibilidad de que ambas hormonas tengan un papel complementario en la respuesta del organismo ante las situaciones de stress (Amir y col., 1.979). Situaciones de alarma, como pueden ser inmovilización, choque eléctrico, fractura, etc., factores que se sabe activan el eje hipofisoadrenal, producen un aumento conjunto de los niveles de ACTH y beta-END plasmáticos. Paralelamente se produce una disminución de su concentración en hipófisis, así como de sus precursores (Guillemin y col., 1.977; Rossier y col., 1.977 b; Amir y col., 1.979). Aún cuando inicialmente se describió que el contenido cerebral de beta-END no se afectaba tras una situación de stress (Rossier y col., 1.977 b) estudios subsiguientes parecen indicar, por el contrario, un aumento de beta-END en situaciones de stress (Amir y col., 1.979). Actualmente se especula la posibilidad de que cerebro y periferia actúen de una manera coordinada ante el stress, siendo la hipófisis la estructura mediadora.

Si bien la acción fisiológica de la ACTH ante las situaciones de stress es bien conocida, falta aún por dilucidar que papel juega la beta-END periférica en estas situaciones. Recientemente se viene apuntando que la beta-END participa de un modo complementario a la ACTH en la respuesta al stress. Así es probable que las endorfinas junto con el ACTH produzcan liberación de catecolaminas desde la médula adrenal (Anderson y col., 1.976). Además se ha de-

mostrado "in vitro" que la beta-END produce un aumento en la síntesis de glucocorticoides en la corteza suprarrenal (Gibson y col., 1.977). Lo que hace sugerir una actuación conjunta beta-END-ACTH en la respuesta secundaria al stress, tal como es la liberación de glucocorticoides. Finalmente decir que se han descrito receptores opiáceos en el páncreas, en neuronas secretoras de glucagón e insulina. Esto podría indicar la participación de la beta-END en el control de estas dos hormonas durante el stress (Ipp y col., 1.978).

Son varios los autores que apoyan la idea de que una fracción de beta-END periférica juegue un importante papel a nivel cerebral, describiéndose recientemente un sistema hipofisario retrogrado mediante el cual la beta-END periférica viajaría hasta el sistema nervioso central (ver 1.6), sugiriéndose de esta forma la participación de la beta-END en los circuitos cerebrales de dolor y respuesta emocional al stress (Amir y col., 1.979; Henry, 1.982).

En síntesis, la beta-END junto al ACTH formarían parte de un sistema difuso periférico de tipo neuroendocrino; de esta forma ambas hormonas actuarían coordinadamente sobre órganos diana periféricos, mientras que en cerebro la beta-END sintetizada aquí y complementada con la periférica darían una respuesta global al stress.

1.3.1.2.3.- Otras causas de variación

Situaciones de stress como son las causadas por hipoglucemia por insulina o en el parto han mostrado aumentos de ACTH y beta-END (Csontos y col., 1.979; Fletcher y col., 1.980). Es de reseñar que en estados endocrinos patológicos ocurre un aumento paralelo en las concentraciones plasmáticas de beta-END y ACTH (Suda y col., 1.978; Weidemanny col., 1.979). En la figura 13, se muestran los factores que afectan los niveles basales de beta-END en plasma humano.

1.3.1.2.4.- Resumen

Todos los estudios anteriormente expuestos sugieren la existencia de niveles plasmáticos basales de beta-END en sujetos normales (Krieger y col., 1.981). De igual forma se ha confirmado la liberación concomitante de ACTH y beta-LPH a partir de la proopiomelacortina. Diversos tejidos a nivel periférico contienen material betaendorfinérgico, pero es la hipófisis al parecer la mayor productora de beta-END circulante. Prueba de esto es que la hipofisectomía se traduce en niveles plasmáticos casi indetectables de esta hormona (Rossier y col., 1.977b).

A pesar de todos los estudios mencionados anteriormente, una visión crítica del tema sugiere que aunque el abanico de posibles acciones de la beta-END y otras sustancias relacionadas es muy am-

FACTORES QUE AFECTAN LOS NIVELES BASALES
DE BETA-ENDORFINA EN PLASMA

<u>Elevan</u>	<u>Referencia bibliográfica</u>	<u>Descienden</u>
1) Stress por ejercicio	Fraioli y col., 1.980 Carr y col., 1.981	
2) Stress	Guillemin y col., 1.977 Rossier y col., 1.977 b	
3) Adición a la heroína	Clement-Jones y col., 1.979	
4) Morfina	Hollt y col., 1.978	
5) Naloxona	Levin y col., 1.981	
6) Metyrapona crónica	Nakao y col., 1.978 Wardlaw y Frantz, 1.979	
7) Insulina	Krieger y col., 1.977 Weidemann y col., 1.979	
8) Vasopresina	Suda y col., 1.978	
9) Parto	Csontos y col., 1.979 Wardlaw y col., 1.979	
10) Adrenalectomía	Guillemin y col., 1.977 Akil y col., 1.979	
11) Enfermedad de Addison	Suda y col., 1.978	
12) Enfermedad de Cushing	Suda y col., 1.978 Weidemann y col., 1.979	
13) Síndrome de Nelson	Nakai y col., 1.978 Weidemann y col., 1.979	
14)	Millán y col., 1.981	Morfina crónica
15)	Guillemín y col., 1.977	Dexametasona
16)	Guillemín y col., 1.977	Hipofisectomía

(Tomado de Frederickson y Geary, 1.982)

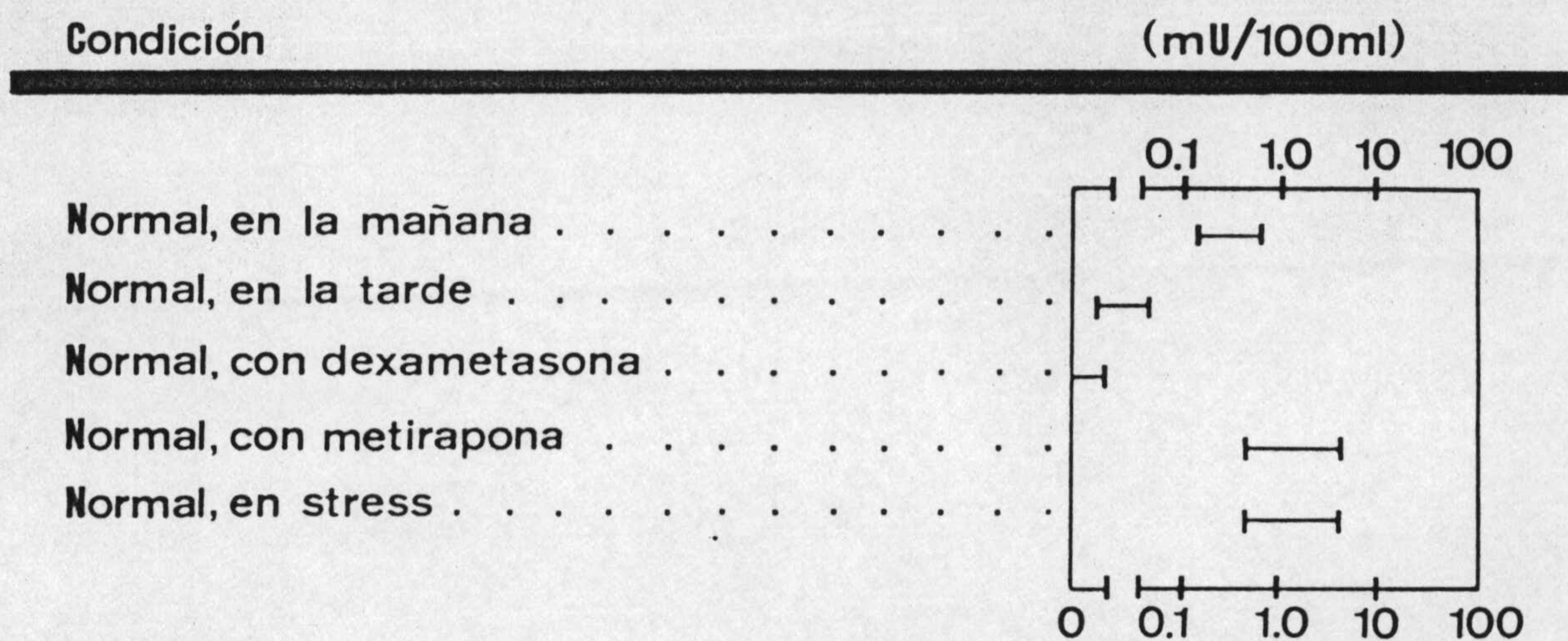
(Figura 13)

plio, sus efectos fisiológicos aún no están suficientemente bien demostrados. Son muy necesarios por tanto, otros estudios que aporten luz sobre los efectos fisiológicos que la beta-END tiene tanto a nivel central como periférico.

1.3.2.- ACTH EN PLASMA

1.3.2.1.- VALORES NORMALES EN EL ADULTO

La cantidad de ACTH que se almacena en la adenohipófisis es pequeña; toda la hipófisis humana supone 50 U del péptido activo. La secreción diaria es de 1 a 5 U, secretándose cantidades mucho mayores en un estado de stress. La concentración matutina de ACTH plasmática en el adulto normal es alrededor de 0,5 mU/100 ml. (25 pg/ml. o 5,5 pmol/lt) (Ganong, 1.981) (Figura 14), menor de 50 pg/ml. (Williams, 1.981), ya que el ACTH se secreta de manera pulsátil, se hace muy difícil la interpretación de las concentraciones plasmáticas individuales.



Niveles plasmáticos de ACTH
(Tomado de Ganong, 1.981)

(Figura 14)

La ACTH desaparece del plasma con rapidez. A pesar de que la corteza suprarrenal tiene receptores con alta afinidad para el ACTH, solo una pequeña proporción de la hormona circulante se une a este órgano diana, puesto que la circulación adrenal representa una proporción muy pequeña de la circulación total del cuerpo. Además, el ACTH tiene una semidesintegración biológica de 25 minutos aproximadamente. El ACTH circulante es convertido rápidamente en una forma biológicamente inactiva. El ACTH es eliminado de la circulación por varios órganos, principalmente el hígado y los riñones y es degradado a sus aminoácidos constituyentes (Nicholson y col., 1.978). La corteza suprarrenal solo elimina una fracción relativamente pequeña de ACTH periférico.

1.3.2.2.- VARIACIONES FISIOLÓGICAS DE LOS VALORES NORMALES EN EL ADULTO

Además del fuerte influjo del ritmo circadiano sobre el ACTH y la beta-END (ver anteriormente, apartado 1.4.2.1) existen otros factores, fisiológicos o patológicos, capaces de modificar sus niveles circulantes. En este apartado estudiaremos brevemente los más importantes.

El factor que prevalece sobre todos los demás factores reguladores en la secreción de ACTH es el stress.

Independientemente de la hora del día y del nivel plasmático de cortisol, el individuo normal responde a un stress con una elevación brusca de la secreción de ACTH y un aumento consecuente de la secreción de cortisol.

Parece que el "reloj biológico" y el stress funcionan a través del sistema nervioso central (SNC). Si se destruye la eminencia media, algo de la secreción basal de glucocorticoides continúa y las suprarrenales no se atrofian, pero el incremento de la secreción a los múltiples tipos de stress queda bloqueado. Las vías nerviosas aferentes de muchas partes del encéfalo convergen hacia la eminencia media. Las fibras de los núcleos amigdaloides median las respuestas al stress emocional, y el temor, la angustia y la aprensión causando elevaciones marcadas en la liberación del ACTH. Los impulsos que se originan en los núcleos supraquiasmáticos también proveen el estímulo para el ritmo circadiano. Los impulsos que ascienden al hipotálamo por la vía del dolor y por la formación reticular, aumentan la liberación de ACTH en respuesta a la lesión (Ganong, 1.981). De esto parece desprenderse que los incrementos en la secreción de ACTH para hacer frente a situaciones stresantes están mediados casi por completo por el hipotálamo. El sistema eminencia media-vasos porta es la vía común final hacia la hipófisis. Así, parece que el SNC estimula la secreción de ACTH, y el cortisol funciona a nivel de la hipófisis (y, posiblemente, también a otros niveles del SNC) supri-

miendo la secreción de ACTH. A igualdad de los restantes factores, que regulan la liberación de ACTH, cuanto menores sean los niveles de cortisol, mayor es la secreción de ACTH. Cuanto mayor sea el stress, mayor será la secreción de ACTH (Williams, 1.981). Pacientes hospitalizados que sufren el stress de una enfermedad no endocrina pueden alcanzar concentraciones plasmáticas de ACTH hasta de 600 pg/ml.

Por último añadiremos que contrariamente a las teorías antes propuestas, la adrenalina y la noradrenalina circulantes no parecen incrementar la secreción de ACTH en humanos (Ganong, 1.981).

En cuanto a los estados patológicos capaces de alterar los niveles de ACTH y beta-END, se han descrito distintas enfermedades capaces de alterar profundamente sus niveles circulantes. En el caso de hipoadrenocorticismo primario, el ACTH plasmático suele estar elevado a concentraciones mayores de 1.000 pg/ml.. Semejantes concentraciones plasmáticas se han encontrado en el plasma de pacientes de cánceres extrahipofisarios que producen ACTH, y en pacientes de enfermedad de Cushing después de adrenalectomía. Igualmente se han observado hipersecreciones extremas de ACTH en ciertos tumores hipofisarios como es el síndrome de Nelson (Williams, 1.981).

1.4.- BARRERA HEMATOENCEFALICA (B.H.E.)

Existe actualmente una gran controversia acerca del posible ingreso (Passaro y col., 1.982) y subsiguiente acción de la beta-END periférica al SNC. Una serie de estudios apoyan la idea de que este péptido alcanza el SNC a través de la BHE a partir de determinadas concentraciones (Rapoport y col., 1.980; Henry, 1.982; Gerner y col., 1.982). Otros autores, sin embargo, han sugerido que este péptido no alcanza el SNC a través de la BHE (Jeffcoate y col., 1.978; Nakao y col., 1.980; Frederickson y Geary, 1.982; Wood, 1.982), sino a través de determinadas áreas cerebrales desprovistas de BHE, - como son los órganos circunventriculares, que podrían detectar las variaciones en los niveles de beta-END circulante.

El término BHE fué introducido por Stern y Gautier hace ya más de cincuenta años. La BHE está formada por el endotelio capilar, donde se produce el intercambio de distintas sustancias entre sangre, LCR y cerebro (Fishman, 1.980). En general la rapidez con la cual penetran las sustancias en el tejido encefálico está inversamente relacionada con el tamaño molecular y directamente relacionada con su solubilidad en los lípidos, los compuestos polares hidrosolubles generalmente cruzan lentamente (Ganong, 1.981). Es pues una barrera altamente selectiva (Myers y col., 1.976). Su existencia confiere, junto con el LCR, un sistema de preservación de la homeos-

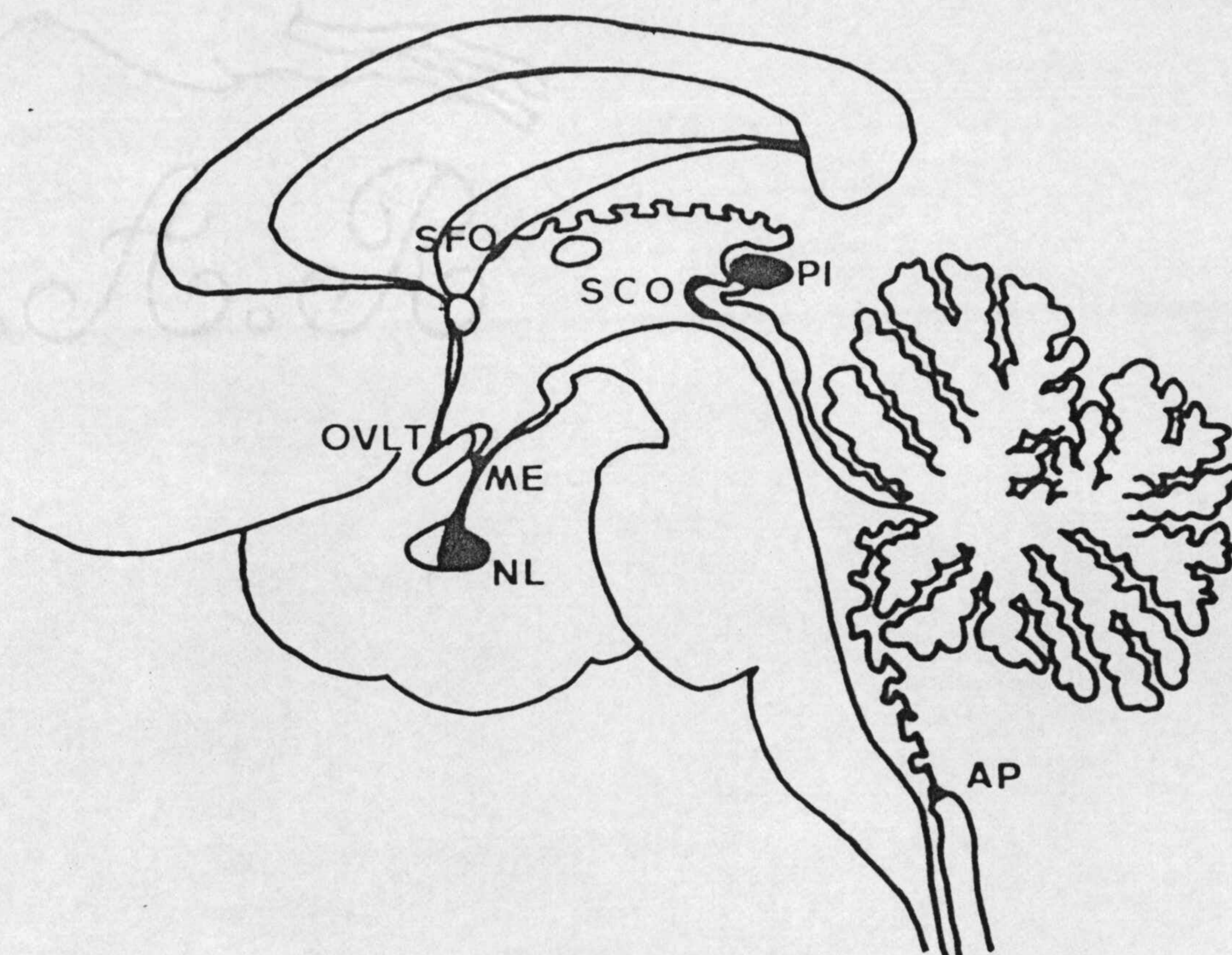
tasis del SNC, facilitando la entrada de metabolitos necesarios así como la salida de aquellos que sean nocivos o innecesarios.

La BHE en ciertos lugares está formada por epitelio coroidal, recibiendo estos lugares el nombre generico de barrera hematoliquoral (BHL). Estos lugares se diferencian del resto de la BHE por estar constituidos por capilares con cierto grado de porosidad. La BHL supone un 0,02 % de la superficie total de la BHE y engloba a los denominados órganos circunventriculares (OCV) suponiendo zonas de mayor acercamiento entre plasma y cerebro. Los órganos circunventriculares son la hipófisis posterior y la parte ventral adyacente de la eminencia media del hipotalamo, el área postrema, el órgano vasculoso de la lámina terminal (OVLT, cresta supraóptica), órgano subcomisural, órgano subfornical y glándula pineal (Fishman, 1.980; Willis y Grossman, 1.981) (Figura 15).

1.4.1.- ACCESO DE LOS NEUROPEPTIDOS AL SNC

Como se ha adelantado, actualmente existe una gran discusión acerca del posible acceso de todos los neuropéptidos al SNC desde la circulación periférica.

Diversas teorías han intentado aclarar el problema. Así, pudiera ser que la beta-END y el



Corte sagital de cerebro humano, mostrando los lugares donde se asientan los órganos circumventriculares (OCV): AP=área postrema; ME=eminencia media; NL=neurohipófisis; OVLT=órgano vasculoso; PI=glándula pineal; SCO=órgano subcomisural; SFO=órgano subforaminal. (Tomado de Weindl, 1.981).

(Figura 15)

ACTH alcanzaran el cerebro a través de un transporte mediado por células especializadas que se localizan entre las ependimarias denominadas Tanicitos (Millhouse, 1.975). Los tanicitos transportan a una serie de hormonas de origen hipotalámico (Fishman, 1.980). Así, se ha podido observar que los péptidos del sistema portal podrían acceder al LCR por medio de los ya citados tanicitos (Rodríguez, 1.976; Jackson, 1.980). Otros sugieren un transporte de beta-END y ACTH al SNC a través del transporte retrogrado descrito por Bergland y Page, en 1.979.

Otras hipótesis apuntan un lugar de entrada, mediado por transportadores específicos para péptidos, los cuales se encuentran ubicados en la BHL (Pardridge y col., 1.981). Evidencias histológicas parecen poner de manifiesto una cierta cantidad de sustancias peptídicas localizadas puntualmente en los OCV (Weindl y col., 1.978). A esto se suman las teorías que parecen sugerir la posibilidad de que terminales nerviosas peptidérgicas puedan terminar directamente en el LCR (Zimmerman, 1.981). No obstante, los estudios hasta el momento presente no muestran correlación alguna entre niveles plasmáticos y en LCR (Jeffcoate y col., 1.978; Nakao y col., 1.980), a excepción del estudio llevado a cabo por López López en 1.983.

Tres estudios parece avalar el paso de la circulación periférica de beta-END y ACTH al SNC. Así, Rapoport y col, en 1.980, utilizando dos análogos de beta-END, otro de beta-LPH y encefalinas

encontraron que, tras la inyección sistemática de estos péptidos, aparecían en el líquido extracelular del encéfalo (Rapoport y col., 1.980). El tiempo que transcurre hasta la aparición de dichos péptidos en el LEC encefálico es de unos once minutos, siempre que la inyección periférica se efectuara lenta y pausadamente. Esto parece mostrar que es necesario un determinado nivel plasmático de beta-END para encontrar niveles en LEC encefálico. Estos hallazgos se determinaron en ratas conscientes y avalan las observaciones de que determinados péptidos puedan ejercer efectos centrales cuando se administran asimismo sistemáticamente en animales conscientes (Greenberg, 1.976 y Tseng, 1.977; citados por Rapoport y col., 1.980).

En otro estudio realizado por Gerner y col., en 1.982, muestra que la perfusión intravenosa de beta-END conlleva un aumento paralelo en los niveles de este péptido en LCR al cabo de un cierto periodo de tiempo.

Un tercer estudio describe importantes observaciones obtenidas recientemente, demostrando que concentraciones elevadas de ACTH en la sangre alcanza el hipotálamo por "reflujo" a partir de la hipófisis. Así cuando se inyecta en hipófisis un análogo de ACTH radiomarcado puede ser recogido en hipotálamo. Existen por lo tanto condiciones que permiten que concentraciones altas de ACTH alcancen regiones del cerebro involucradas en la regulación de ACTH

(Williams, 1.981).

No obstante, los estudios citados anteriormente y que parecen avalar el paso de beta-END y ACTH al SNC son los dos primeros eminentemente farmacológicos y concretamente el trabajo de Gerner es altamente criticable ya que, el estudio está realizado con sujetos enfermos sometidos a medicación y cuyas condiciones de permeabilidad de su BHE desconocemos. Por otro lado sólo se verificó aumento de beta-END en LCR en tres pacientes sometidos a dosis sistemáticas que diferían en cada caso, siendo estas dosis superiores a la cifra de beta-END que se puede encontrar en una situación de stress máximo.

De cualquier forma el tema sobre el posible acceso de beta-END y ACTH al SNC es aún un tema abierto a una investigación más crítica.

1.5.- ENDOCRINOLOGIA DEL EJERCICIO FISICO

1.5.1.- STRESS

Numerosos estudios documentan la sensibilidad de la corteza adrenal a una amplia variedad de estímulos stresantes. La corteza adrenal en el ser humano presenta una aumentada secreción de cortisol estimulada por la elevada secreción de ACTH de

la hipófisis, que responde a su vez al aumento del factor liberador de ACTH (CRF) (Fraiola y col., 1.980; Gambert y col., 1.981; Carr y col., 1.981; Williams, 1.981).

Los estudios más avanzados de la respuesta de la glándula suprarrenal a diversos estímulos stresantes, se han centrado en una definición situacional del stress. Hay numerosos estudios sobre la subida del cortisol durante la intervención quirúrgica. Otros incluyen las respuestas a actividades deportivas como correr, o la exposición repentina al calor o al frío. La asunción subyacente fué que la mayor parte de los pacientes experimentarían estos estímulos como incitantes o stresantes, similares a la cirugía (Williams, 1.981).

El estudio de las respuestas adrenales a la anticipación de la cirugía, ha mostrado que la exposición a un ambiente nuevo como el ingreso hospitalario, un exámen o una variedad de otros estímulos, dá como resultado diferencias significativas entre cada individuo. Así se presentan subidas muy elevadas y repentinas de cortisol en unos individuos, mientras que, otros, mostraron una respuesta mínima o ninguna respuesta.

Una observación hecha por muchos autores permitió comprender estas diferencias individuales en las respuestas a estímulos presumiblemente idénticos. Si el individuo era expuesto repetidamente

al mismo estímulo, la suprarrenal no daba ninguna respuesta. Así que la novedad del estímulo para este individuo era una determinante indispensable para averiguar cómo era stresante y provocativo el estímulo. La cuestión de cómo se adaptaba el individuo al estímulo no era más que una variable psicológica que podría explicar las diferencias individuales en respuesta a un estímulo potencialmente amenazante o doloroso.

Un ulterior trabajo ha sido llevado a cabo para aclarar porqué ciertos individuos mostraron una respuesta adreno-cortical, mientras que otros no, cuando eran expuestos a una variedad de estímulos, de naturaleza primariamente psicológica. Observaciones del estado emocional de estos individuos o sus informes sobre lo difícil o amenazador que encontraron el ambiente han sido muy útiles para pronosticar las respuestas adrenales.

Investigaciones llevadas a cabo sobre varios estímulos físicos han subrayado igualmente la importancia de las distintas experiencias en la vida pasada o en la percepción del ambiente que cada individuo tiene. Así atletas con mucha experiencia entrenando moderadamente debajo de un 70 % del máximo consumo de O_2 no presentaron una activación adreno-cortical en comparación con atletas de menor experiencia. Esto nos lleva a cuestionar cuán stresante son los estímulos en sí mismo. Muchos estudios que pretendían investigar la naturaleza stresante de una

variedad de estímulos físicos sólo han observado cómo la exposición a un estímulo nuevo provoca la secreción adrenal.

Hasta hace poco tiempo, el estudio del cortisol u otras respuestas endocrinas a estímulos stresantes ha llevado a resultados perplejos e inconstantes. Esto se debe, en parte, al hecho de que los individuos no responden al mismo estímulo como stresante. Actualmente se ha tomado en consideración que los individuos difieren en la interpretación de la cuantía del stress inherente a cualquier situación (Williams, 1.981).

Actualmente no hay aún un cuadro uniforme que nos permita conocer que sucede en el stress psicológico que sufren los atletas en competición (Sutton y col., 1.975; Tharp, 1.975).

1.5.2.- HORMONAS HIPOTALAMICAS, HIPOFISARIAS Y EJERCICIO FISICO

En la actualidad el conocimiento que relacione cambios endocrinos con el ejercicio físico es aún limitado y hay una manifiesta polémica acerca de como el sistema endocrino está implicado en las respuestas y adaptaciones.

No hay evidencias claras que demuestren que los factores hipotalámicos clasificados como hor-

monas, pues ejercen su acción sobre la hipófisis, tengan una relación directa con el ejercicio físico y cambios en los niveles de secreción de factores liberadores o inhibidores hipotalámicos. Se acepta, sin embargo, en términos generales que el ejercicio físico estimula la liberación de GH (hormona del crecimiento) desde la hipófisis anterior. Igualmente aunque tampoco existen datos conclusivos que evidencien que las secreciones de tirotropina o corticotropina son elevadas por el ejercicio físico, el hecho de que los niveles sanguíneos de tiroxina y cortisol aumentan con el ejercicio físico sugieren que tiroides y adrenales son estimuladas por tirotropina y corticotropina respectivamente. La hipófisis anterior por su parte es estimulada para liberar estas dos hormonas hipofisarias por la secreción aumentada de los factores hipotalámicos liberadores de tirotropina y corticotropina (Lamb, 1.978).

El eje hipotálamo hipofisario parece participar de la respuesta del organismo ante el ejercicio físico. Así la hormona antidiurética parece ser la responsable de la retención aumentada de agua ante el ejercicio severo, ésto puede ser una respuesta que ayude a conservar el agua corporal durante el ejercicio físico.

1.5.2.1.- HORMONA DEL CRECIMIENTO (GH)

Está ampliamente reconocido que los niveles de GH aumentan en respuesta al stress psicológico, sin embargo se ha observado que las concentraciones de GH son elevadas por el ejercicio físico aún cuando se tomen todas las precauciones para minimizar los efectos psicológicos (Hartley y col., 1.972; Hartley, 1.975). Se han propuesto otros factores como posibles estimuladores de la liberación de somatotropina durante el ejercicio físico, pero el mecanismo subyacente a esta respuesta hormonal permanece aún desconocido (Metivier, 1.975; Shephard y Sidney, 1.975).

Parece evidente que en sujetos entrenados la elevación de los niveles de GH durante el ejercicio físico son mucho menos drásticos que los que ocurren en individuos no entrenados (Hartley y col., 1.972; Shephard y Sidney, 1.975). Tal adaptación puede en buena parte resultar de la reducción del stress psicológico que durante el ejercicio tienen los sujetos entrenados (Lamb, 1.978).

Por otra parte se ha observado que el ejercicio prolongado da un marcado incremento en las concentraciones plasmáticas de GH (Galbo y col., 1.977, citados por Gambert y col., 1.981; Williams, 1.981).

Las elevaciones de GH a causa del ejer-

cicio físico producen un efecto beneficioso sobre el tejido conectivo y el crecimiento muscular. Esto podría explicar parcialmente la fuerza de los tendones, ligamentos, músculos y densidad aumentada de los huesos observada en aquellos que están físicamente entrenados. La hormona del crecimiento ayuda a la movilización de los ácidos grasos desde las reservas del tejido adiposo aumentando así los niveles en sangre de éstos. Esta movilización requiere un periodo de latencia por lo que puede sugerirse que el efecto de esta hormona puede ser únicamente valorable en el ejercicio prolongado o intenso (Pruett, 1.970).

1.5.2.2.- TIROTROPINA

Hay razones para creer que el nivel de la secreción de tirotropina se eleva con el ejercicio físico. Parece evidente que la secreción de tiroxina aumenta con el ejercicio físico y la secreción de la glándula tiroidea es estimulada por la tirotropina. La característica que define la secreción de tirotropina durante el ejercicio físico es que ésta ocurre en los momentos que preceden a su inicio (Mason y col., 1.973). Esto es durante la actividad física en sí, no se ha detectado incremento de tirotropina (Terjueng y Tipton, 1.971). Esto habla en favor de que la tirotropina presente en sangre antes del inicio al ejercicio puede tener un efecto sobre la función tiroidea durante el ejercicio físico.

1.5.2.3.- LUTEOTROPINA (LSH)

La LSH es la responsable de la estimulación de los testículos para producir testosterona. Puesto que una elevación de la secreción de testosterona puede promover la hipertrofia muscular e incrementar la fuerza, es muy probable que un incremento en LSH suponga una facilitación por parte del organismo para la adaptación y respuesta al ejercicio físico (Lamb, 1.978).

1.5.2.4.- PROLACTINA

La secreción de esta hormona durante el ejercicio físico parece tener dos facetas, esto es, por un lado conserva el agua a través de su efecto antidiurético sobre los riñones y por otro lado promueve la liberación de ácidos grasos para obtener mayor energía.

Algunos estudios han mostrado niveles de prolactina en sangre durante el ejercicio físico (Hartley y col., 1.972; Malarkey, 1.976), mostrando un cambio ligero en comparación con el gran aumento que sufre la GH. Aunque no existen pruebas suficientes de momento, parece como si la PRL, así como la GH, requieran un estímulo provocativo o disturbio más intenso, comparado con el que lleva a un aumento de los niveles de cortisol o catecolaminas (Williams, 1.981).

1.5.3.- HORMONAS DE LA CORTEZA SUPRARRENAL Y EJERCICIO FISICO

La corteza adrenal es estimulada por la corticotropina hipofisaria para producir y secretar tres grandes grupos de hormonas: glucocorticoides, mineralocorticoides y hormonas sexuales.

El cortisol y otros glucocorticoides promueven la utilización grasa en tejidos por movilización de grasas y proteínas y conservación de carbohidratos. Bajo la influencia del cortisol, la glucosa sanguínea, tiende a elevarse. Esta conservación de la glucosa sanguínea podría concebirse como muy útil para proveer de una ayuda al cerebro con nutrientes adecuados durante el ejercicio físico prolongado. Puesto que el tejido nervioso depende fundamentalmente de la glucosa como fuente de energía. La movilización de ácidos grasos podría usarse igualmente en ejercicios físicos de larga duración que requiere un gran gasto energético.

Los glucocorticoides son también esenciales para el organismo ya que éstos suministran la resistencia a situaciones stresantes incluyendo el stress que supone el ejercicio físico severo.

Los mineralocorticoides con la aldosterona como su mayor representante están envueltos primariamente en la regulación de H_2O , Na y retención de K por el riñón. El mantenimiento de niveles

apropiados de Na y K en los fluídos corporales es algo vital para las funciones musculares y nerviosas, puesto que ambos iones están implicados en el mantenimiento de los potenciales de membrana, sin los cuales los nervios no pueden conducir impulsos y los músculos no pueden contraerse. La aldosterona trabaja también en colaboración con la hormona antidiurética en la conservación del agua corporal, una función muy importante en el ejercicio físico más aún cuando éste se realiza en condiciones de temperatura elevada.

C O R T I S O L

Existe controversia acerca de la implicación de los niveles de cortisol en sangre para sujetos no entrenados (Pruett, 1.970; Terjung, 1.975). Así en presencia de niveles moderados de ejercicio se ha descrito incremento, descenso e incluso ningún cambio en la concentración de cortisol sanguíneo. Sin embargo, parece existir un acuerdo en que el cortisol plasmático y los niveles de excreción urinaria de cortisol libre son aumentados por el ejercicio duro y prolongado (Hartley y col., 1.972; Metivier, 1.975; Shephard y Sidney, 1.975; Newmark y col., 1.976).

Parece evidente que el mecanismo que subyace en las elevaciones de cortisol plasmático se halla bajo la influencia del ACTH (Hartley y col.,

1.972; Fraioli y col., 1.980; Gambert y col., 1.981; Carr y col., 1.981; Elliot y col., 1.984).

Recientemente han sido descritos aumentos de cortisol plasmático que fueron significativos tras el entrenamiento, aumentando con la intensidad estos niveles de cortisol en plasma (Carr y col., 1.981).

1.5.4.- HORMONAS DEL SISTEMA SIMPATICO Y EJERCICIO FISICO

Todas las terminaciones nerviosas simpáticas incluyendo la glándula adrenal secretan adrenalina como noradrenalina, es difícil por tanto separar los efectos de la secreción adrenal propiamente dicha del efecto de los nervios simpáticos en general cuando en plasma se observa un cambio de adrenalina o noradrenalina.

La estimulación simpática de los vasos sanguíneos y la capacidad cardiaca son claramente importantes para el ejercicio físico. Además la adrenalina incrementa los niveles de ácidos grasos circulantes y eleva los niveles de glucosa circulantes. Podría ser que este sistema se usara en el ejercicio prolongado. Los niveles de noradrenalina y adrenalina en plasma vuelven a la normalidad dentro de los seis minutos posteriores a la finalización del ejercicio físico (Banister y Griffiths, 1.972), por lo

que no pueden esperarse efectos prolongados en el organismo. El 75% de la secreción de la médula adrenal es adrenérgica mientras que las terminales nerviosas secretan mayoritariamente noradrenalina.

Generalmente no se observa un aumento en sangre de catecolaminas cuando el ejercicio físico es moderado a no ser que se acompañe de un stress psicológico inusual. En el momento que el ejercicio físico se intensifica lo suficiente como para requerir una toma de O_2 de más del 60% de la razón máxima de oxígeno consumido ocurre una elevación de los niveles de catecolaminas (Banister y col., 1.972; Von Euler, 1.973; Galbo y col., 1.975). Por tanto un ejercicio progresivamente intenso aumenta las concentraciones de estas dos hormonas en sangre (Galbo y col., 1.977).

Parece ser que hay una mayor liberación de noradrenalina que de adrenalina, aún cuando como ya hemos dicho el eje simpático adrenal funciona como un sistema único, esto indicaría una mayor participación de las terminales nerviosas simpáticas que de la glándula adrenal durante el ejercicio físico (Hartley y col., 1.972).

La mayoría de las investigaciones apuntan el hecho de que no se aumentan los niveles de catecolaminas en sangre después del entrenamiento (Hartley y col., 1.972), por otra parte el estudio de la excreción urinaria de personas entrenadas no

muestra ser necesariamente distinto del estudio realizado en los mismo sujetos antes del entrenamiento (Brundin y Cernigliaro, 1.975). Las reducciones que se pueden observar en las elevaciones de estas hormonas con el ejercicio submaximal puede ser explicada por el stress físico y psicológico asociados con el recargo del ejercicio standard después del entrenamiento (Lamb, 1.978; Williams, 1.981).

1.5.5.- HORMONAS PANCREATICAS Y EJERCICIO FISICO

La insulina y el glucagón están implicadas en la regulación de los niveles sanguíneos de glucosa. Así la insulina disminuye y el glucagón eleva los niveles plasmáticos de azúcar. El glucagón también estimula el corazón y activa un enzima que libera ácidos grasos dentro de la sangre desde el almacén de grasas que hay en todo el cuerpo. Estas acciones hormonales pueden ser de gran importancia en el ejercicio prolongado. Por su parte la insulina tiene un gran efecto de aumento de los almacenes de glucógeno en músculo esquelético y es muy probable que esté relacionado en la recuperación del glucógeno muscular que sigue al ejercicio severo.

1.5.5.1.- INSULINA

Las concentraciones de insulina plasmática decrecen tras el ejercicio físico al menos en un 50%

respecto a los sujetos observados en reposo (Hartley y col., 1.972; Galbo y col., 1.975; Vranic y col., 1.975), las respuestas que se establecen aquí son réplica a un régimen de ejercicio de gran intensidad y duración (Hartley y col., 1.972; Galbo y col., 1.975). La concentración plasmática de insulina no vuelve a los valores previos al ejercicio físico al menos hasta una hora o más de la finalización del ejercicio físico (Hartley y col., 1.972).

Parece ser que la reducción de insulina encontrada en sangre durante el ejercicio físico resulta de una secreción disminuida de insulina por el páncreas y de una toma no incrementada de insulina por los músculos esqueléticos (Vranic y col., 1.975). Algunas teorías apuntan la posibilidad de que la reducción impuesta por el páncreas se deba a una tasa de catecolaminas elevadas en plasma. Por otro lado al no producirse una caída destacable en la glucosa sanguínea en otros tipos de ejercicio, los descensos de insulina no son causados por cambios en las concentraciones de glucosa plasmática.

1.5.5.2.- GLUCAGON

Parece ser que en humanos es necesaria una larga duración del ejercicio físico para que se detecten incrementos en el glucagón plasmático (Galbo y col., 1.977). Este aumento persiste por más de 30 minutos una vez finalizado el ejercicio físico

(Nilsson y col., 1.975).

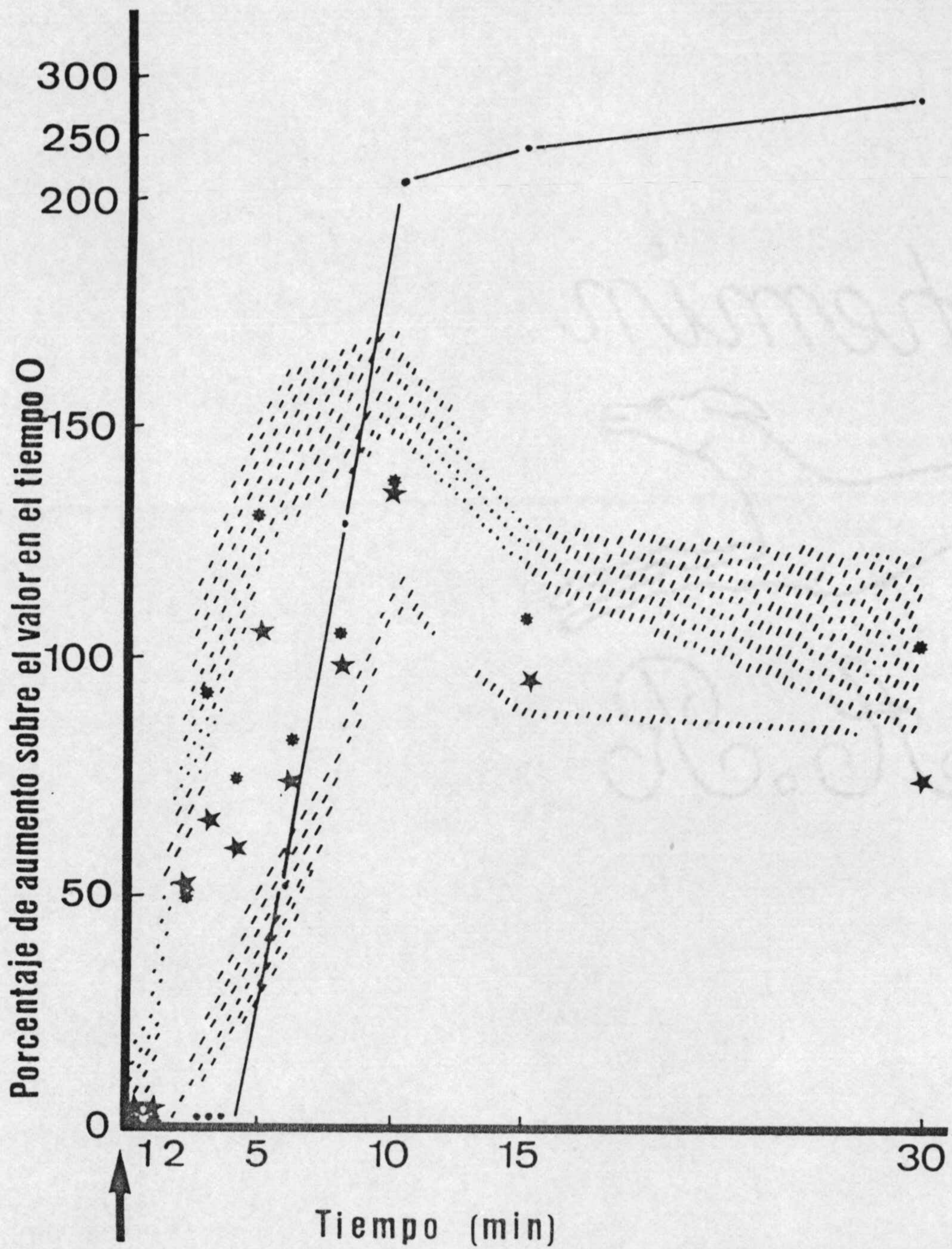
Mientras que el efecto del entrenamiento sobre la secreción de glucagón es desconocido, los atletas entrenados parecen tener una reducción menor en sus niveles de insulina durante el ejercicio físico, tal vez motivado a que el entrenamiento conlleva una reducción de catecolaminas durante el ejercicio físico.

1.6.- β -ENDORFINA, ACTH Y EJERCICIO FISICO

1.6.1.- INTRODUCCION: STRESS

Actualmente está bien establecida una variedad de estímulos stresantes, estudiados principalmente en ratones, que provocan un aumento paralelo de beta-END y ACTH a nivel periférico (Guillemin y col., 1.977) (Figura 16), aunque ésto no parece ocurrir en el cerebro (Rossier y cols., 1.977 b).

La beta-END y la ACTH, como hemos visto en los apartados precedentes parecen ser sintetizadas en las mismas células de la hipófisis. También parece que el control de la secreción de beta-END de la hipófisis es paralela al de la ACTH, ambas suben como consecuencia de la adrenalectomía, y ambas son inhibidas tras la administración de dexametasona



Niveles plasmáticos de ACTH (asteriscos) y beta-END (estrellas) en ratas con stress agudo provocado en el tiempo cero. La línea continúa muestra los niveles plasmáticos de corticosterona adrenal. (Tomado de Guillemin, 1.977).

(Figura 16)

(Williams, 1.981).

1.6.2.- EFFECTOS DEL EJERCICIO FISICO SOBRE LA SECRE-
CION DE BETA-ENDORFINA

El ejercicio físico altera los niveles periféricos de una amplia variedad de hormonas en el hombre (ver apartado 1.7). La magnitud de estas respuestas hormonales al ejercicio físico parece depender de la cantidad de ejercicio físico ejecutado y del grado de entrenamiento físico previo (Hartley y col., 1.972). Así, recientemente, ha sido sugerido que los niveles plasmáticos de beta-END se incrementan marcadamente en respuesta al ejercicio físico intenso (Fraoli y cols., 1.980). Varios estudios recientes, parecen apoyar esta idea (Colt y col., 1.981; Elliot y col., 1.984). Así Colt y colaboradores, han mostrado que los niveles plasmáticos basales de beta-END sufrían un drástico aumento en respuesta al esfuerzo intenso originado por una carrera enérgica en individuos entrenados (Colt y cols., 1.981).

Observaciones realizadas en carreras de breve duración submáximas sugieren que los aumentos periféricos de beta-END ocurren en menor número de los individuos vistos a exámen. Así se observan incrementos de un 45 % de los individuos que realizan la carrera cómoda. Mientras que cuando ésta es vigorosa se muestra un aumento de beta-END periférica

en un 80 % de la población que toma parte en dicha prueba (Colt y cols., 1.981). Por otro lado los aumentos de beta-END periférica observados tras el ejercicio moderado han mostrado ser inferiores a aquéllos que se observan tras el ejercicio físico enérgicos (Colt y cols., 1.981). Asimismo, se han observado valores superiores de beta-END inmunoreactiva en plasma de hombres comparados con los obtenidos en mujeres tras una carrera submaximal (Gambert y col., 1.981).

1.6.3.- EFFECTOS DEL EJERCICIO FISICO SOBRE LA SECRECION DE ACTH

El nivel sanguíneo de cortisol secretado por la corteza adrenal se incrementa usualmente por el ejercicio físico intenso y generalmente se asume que esta respuesta es disparada a causa de una gran secreción de ACTH desde la hipófisis. Esto se basa en el hecho de que la corticotropina es un potente estimulador de la secreción hormonal adrenal. De igual modo incrementa la movilización grasa desde los reservorios y puede ser usada en respuesta al ejercicio de larga duración. Debido a que el ACTH es rápidamente destruido (vida media de 4 a 18 minutos) (Lamb, 1.978) no ha podido ser determinado durante el ejercicio físico hasta muy recientemente (Fraiola y col., 1.980; Colt y col., 1.981).

La secreción de ACTH aumenta con el

stress emocional. Se podría postular que sólo el hecho de conocer que se va a realizar un ejercicio físico intenso, es suficiente para producir un stress que facilite un aumento en la secreción de ACTH. Este efecto anticipatorio podría originar que la secreción de cortisol aumentara durante el ejercicio físico. El ACTH estimula la secreción suprarrenal en uno o dos minutos, mientras que el cortisol solamente es degradado lentamente, teniendo una vida media de cuatro horas aproximadamente (Shephard y Sidney, 1.975).

1.6.4.- PARALELISMO EN LA SECRECIÓN DE BETA-END Y ACTH EN EL EJERCICIO FÍSICO

Algunos estudios han sugerido la posibilidad de un aumento periférico concomitante de beta-END y ACTH en respuesta al ejercicio físico. Así, estudios realizados en humanos han puesto de manifiesto un aumento paralelo en la secreción periférica de estas dos hormonas (Fraoli y cols., 1.980; Gambert y col., 1.981) ante un nivel de esfuerzo, dado los niveles plasmáticos de beta-END y ACTH, van a sufrir un aumento concomitante y proporcional en plasma con arreglo al esfuerzo físico ejecutado (Fraoli y cols., 1.980).

Otro autores han mostrado aumentos paralelos de beta-END y cortisol plasmáticos mediados por el ejercicio físico intenso y en menor grado en la carrera cómoda (Colt y col., 1.981; Elliot y col.,

1.984), sugiriendo que los aumentos observados en las concentraciones plasmáticas de cortisol estén mediados por estimulación y liberación de ACTH (Hartley y cols., 1.972). Dessypris en un estudio realizado en atletas que se preparaban para correr maratón ha puesto de manifiesto los aumentos periféricos que ocurren tras la carrera de ACTH y cortisol plasmáticos (Dessypris y col., 1.980), lo que apoya la idea de la mediación del ACTH en la liberación aumentada del cortisol plasmático.

1.6.5.- NIVELES PLASMATICOS DE BETA-END Y ACTH TRAS UN EJERCICIO FISICO DADO

1.6.5.1.- EN ENTRENADOS Y SEDENTARIOS

Actualmente existe una gran variabilidad en los datos motivado posiblemente por el stress emocional y por la no uniformidad del test físico, así como la respuesta individual que cada individuo posee a un determinado estímulo. En el presente apartado nos centraremos en el aspecto cualitativo ya que la exposición de un número dispar de datos empíricos es tendente a la confusión.

Los resultados hasta el momento presente muestran que, en sujetos entrenados, la carrera de larga duración conlleva a un aumento marcado en los niveles de beta-END y ACTH plasmáticas (Fraiola y

col., 1.980; Colt y col., 1.981).

Un estudio realizado con sujetos sedentarios mostró que a medida que éstos progresaban en el entrenamiento de una actividad física, los valores encontrados de beta-END y cortisol plasmáticos iban en aumento (Carr y cols., 1.981), así como sus niveles basales (Carr y cols., 1.981). Este estudio contrasta con otro en el cual se muestra una correlación negativa entre el número de años de práctica deportiva y los niveles basales de beta-END, sugiriendo que a mayor número de años de práctica deportiva, los niveles basales de beta-END son inferiores (Colt y col., 1.981.).

Un estudio reciente realizado en ratas entrenadas en la carrera corta y en otras no entrenadas, ha mostrado aumentos significativos de beta-END plasmática tras la carrera en ambos grupos (Metzger y col., 1.984). En este mismo estudio, se observaron niveles basales de beta-END decrecidos en la población entrenada al ejercicio físico comparada con la control.

1.6.5.2.- SECRECION FACILITADA

Las observaciones realizadas por Carr y colaboradores han hecho sugerir una secreción facilitada en aquellos sujetos que practican la carrera diaria y durante años. Esto se apoya en el hecho de que sujetos sedentarios han confirmado la impresión clínica de que éstos han encontrado el test físico al que se les sometió menos stresante a medida que el estudio progresaba, sugiriendo la facilitación a la liberación de beta-END y cortisol (Carr y col., 1.981).

1.6.6.- AMENORREA SECUNDARIA

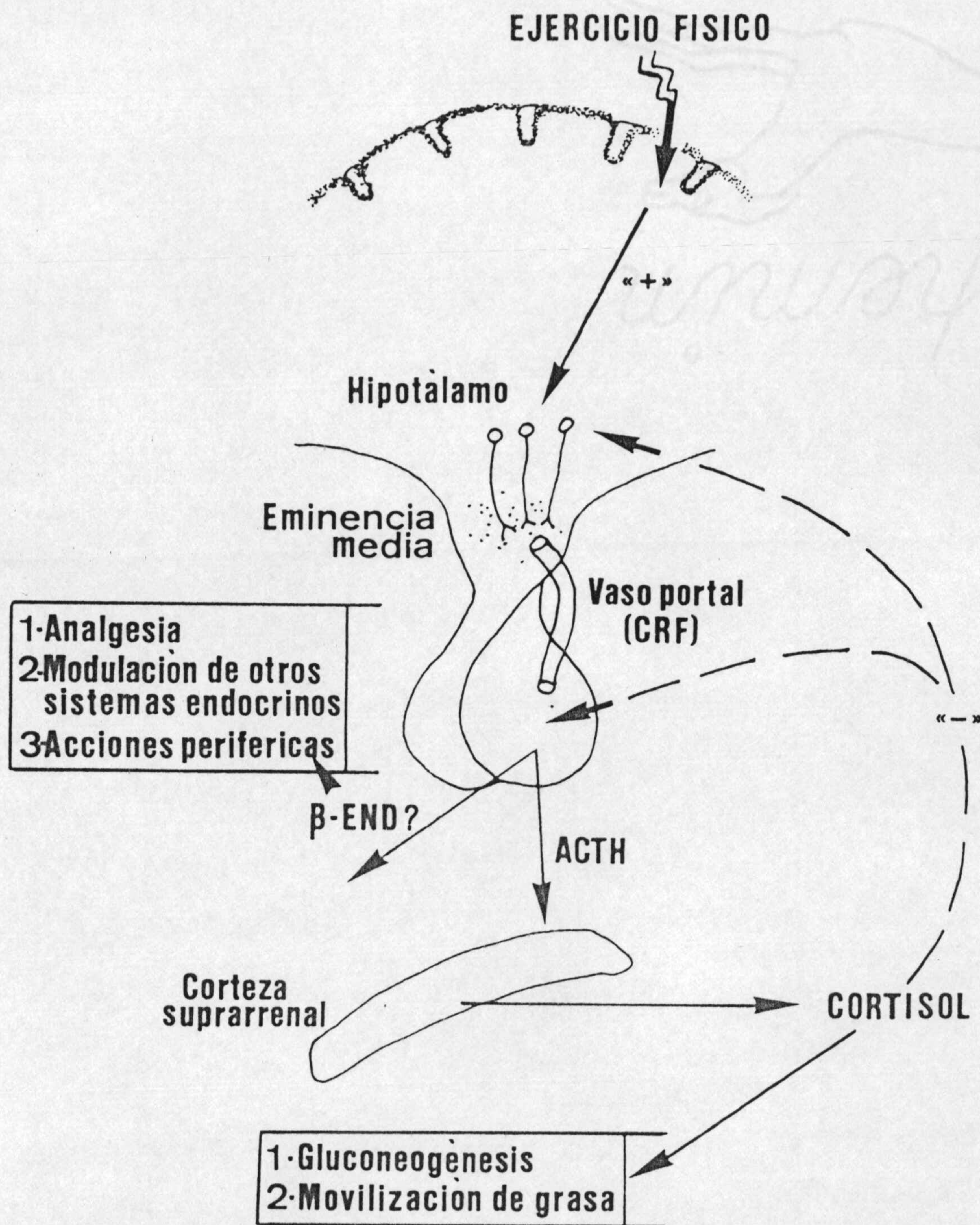
Un aspecto importante en la relación beta-END y ejercicio físico es el relacionado con la amenorréa secundaria descrita en atletas que practican la carrera prolongada (Carr y col., 1.981). Parece que estos trastornos están en función directa al kilometraje semanal que hacen estas atletas. Actualmente se desconocen los mecanismos por los cuales esta amenorréa secundaria ocurre, no obstante ha sido sugerido que sea a través de un mecanismo a nivel hipotalámico. Así, se ha demostrado la acción inhibitoria que sobre la liberación de LHRH a nivel hipotalámico tienen los péptidos opiáceos (Hompes y col., 1.982). Es posible, por tanto, que unos niveles circulantes elevados de este péptido, fueran el origen o al menos parte del origen desencadenante de esta

amenorréa (Cooper y col., 1.982; Hompes y col., 1.982; Oltras y col., 1.984)

1.6.7.- SINDROME DE ABSTINENCIA

Desde el reciente descubrimiento de las endorfinas a las que se adscriben acciones moduladoras del dolor y del estado de humor (Goldstein, 1.976), se las relaciona con la acción antidepresiva del ejercicio físico (Markoff y col., 1.982). Se ha descrito que los atletas que practican ejercicio físico intenso y continuado, cuando éste se suprime bruscamente muestran un síndrome de abstinencia, acompañado de depresión y trastornos psicósomáticos (Baekeland, 1.970). Recientemente, debido a la posibilidad de estudiar los niveles de beta-END circulante, ha sido sugerida la hipótesis de su posible correlación con el síndrome de abstinencia antes descrito (Dienstbier y cols., 1.980; Markoff y col., 1.982).

En estudios empíricos realizados sobre distintos niveles de esfuerzo, tales como son carreras de distinto recorrido, se ha podido observar que existe aumento y correlación entre éstos dos y los niveles plasmáticos de beta-END. Sin embargo, la significación biológica de estas variaciones plasmáticas permanece aún desconocida (Figura 17), en tanto que la beta-END es liberada por la hipófisis junto con la ACTH en condiciones fisiológicas (Nakao y



Secreción de ACTH y beta-END mediada por el ejercicio físico. Acciones más importantes conocidas y supuestas de estas dos hormonas. (Modificado de Guyton, 1.976, Williams, 1.981).

(Figura 17)

cols., 1.979). Es posible que la beta-END periférica forme parte de un mecanismo inespecífico de stress. Esta posibilidad sin embargo, no ha sido comprobada aún experimentalmente.

Es igualmente posible que la beta-END en condiciones especiales tal cual pudiera ser el ejercicio físico crónico, cruce la BHE y en tal condición actuar en el sistema nervioso central. Este aspecto en la actualidad es altamente controvertido (Passaro y cols., 1.982), no obstante, un estudio reciente realizado con ratas sobre las alteraciones de beta-END muestra que tras una carrera aguda, los niveles de beta-END no sufren cambio a nivel cerebral y sí periféricamente (Metzger y col., 1.984).

1.7.- HOMEOSTASIS

El consumo de energía continuado y la alimentación intermitente obliga a almacenar nutrientes para el gasto entre comidas y como contingente para las demandas requeridas por el ejercicio físico y el ayuno prolongado. Los depósitos endógenos más importantes de combustible se encuentran en forma de triglicéridos en el tejido adiposo, glucógeno hepático y muscular y proteínas musculares. La mayoría de los tejidos van a cubrir sus necesidades energéticas a través de la glucosa que se deriva del glucógeno hepático o de los ácidos grasos libres que

proceden de los triglicéridos, en tanto que el SNC, y en menor grado otros órganos especializados, van a depender casi por completo de la glucosa. Debido a que los niveles de glucosa en sangre han de permanecer dentro de unos límites estrechos para una función normal, se ha desarrollado un sistema complejo para el gasto de sustrato energético y generación de novo de glucosa. En el hombre normal los niveles plasmáticos de glucosa, oscilan entre 50-115 mg/dl. a las cinco-seis horas de la ingesta y después del ayuno nocturno. Estos niveles, mantenidos dentro de este relativamente estrecho margen, son el resultado de la interacción sincronizada compleja entre factores neurales y hormonales.

1.7.1.- RESPUESTA AL EJERCICIO FISICO

Durante el ejercicio físico los niveles plasmáticos de glucosa van a permanecer invariables. La utilización muscular de glucosa va a aumentar con todos los niveles de esfuerzo físico. Este aumento no conlleva una elevación de insulina plasmática, pero para que se verifique la entrada de glucosa al músculo, es necesaria la presencia en plasma de esta hormona. Es posible que el aumento del flujo sanguíneo muscular origine, durante el ejercicio físico, una mayor exposición de los receptores insulínicos del músculo, lo cual causaría una mayor captación de glucosa por parte del músculo sin modificarse los niveles plasmáticos de glucosa e insulina. El meca-

nismo de esta adaptación va a variar dependiendo de la duración e intensidad de el ejercicio físico ejecutado.

Si el gasto de glucosa aumenta en la realización del ejercicio físico, su liberación deberá elevarse en el hígado manteniéndose así las concentraciones en sangre constantes. Durante el ejercicio físico suave, la mayor parte de los estudios coinciden en señalar que ocurre una caída en el tono vagal así como una elevación en la frecuencia cardíaca y un aumento relativamente pequeño en la actividad simpática que se asocia con descensos proporcionales en la secreción de insulina. Debido a ésto, hay un aumento en la movilización de ácidos grasos. El descenso de la liberación de insulina explicaría el aumento de la liberación de glucosa que durante el ejercicio físico suave ocurre. Sin embargo, las observaciones realizadas en animales y en el hombre pancreatetectomizados a los que se les ha administrado insulina en una cantidad constante por vía intravenosa e intraportal durante el ejercicio físico suave, mostró la ausencia de hipoglucemia. Puede ocurrir, por tanto, que la elevada secreción de glucosa por parte del hígado sea debida a un cambio en el tono del SNA sobre el hígado o a la acción misma de la glucosa.

En el ejercicio más intenso o prolongado, el sistema nervioso simpático sufre mayor estímulo dando lugar así a una lipólisis mayor. Aunque

existe un paralelismo entre la intensidad del ejercicio ejecutado y el consumo de glucosa por el músculo, en el ejercicio físico intenso el principal aporte de energía muscular van a ser los ácidos grasos. En el ejercicio físico marcadamente intenso, las concentraciones plasmáticas de glucosa van a descender, observándose también un incremento marcado de las concentraciones plasmáticas de catecolaminas. La administración de glucosa antes de que descienda, conduce a una mejoría en la respuesta adrenergica, indicando así que las pequeñas variaciones en las concentraciones plasmáticas de glucosa que ocurren durante el ejercicio físico intenso son detectadas a nivel central, conduciendo a una respuesta autonómica contrarreguladora. En el ejercicio físico intenso, los niveles plasmáticos de glucagón van a aumentar ligeramente. Al ser bajos los niveles de insulina en estas condiciones, es posible que el glucagón desempeñe un papel significativo en la adaptación metabólica hepática aunque la significación fisiológica de estos cambios permanece aún sin dilucidar.

La ingesta de hidratos de carbono durante el ejercicio físico conlleva respuestas de glucosa que pueden ser marcadamente variables, dependiendo del esfuerzo ejecutado y de la duración de éste. En un ejercicio físico suave, si la adaptación predominante es vagal, la tolerancia a los carbohidratos será normal o aumentada, debido a la utilización - acelerada de glucosa por el hígado y a la pequeña inhibición de la liberación de insulina. Los mayores

niveles de adrenalina y noradrenalina observados en el ejercicio intenso inhibirán la liberación de insulina en respuesta a la administración de carbohidratos, lo que origina una intolerancia a éstos a pesar del aumento en la utilización de glucosa por parte del músculo (Williams, 1.981).

1.8.- REGULACION DEL AGUA CORPORAL

La neurohipófisis tiene como función homeostática principal el mantenimiento de la concentración de agua sanguínea dentro de un estrecho margen (+1,8%). Estudios realizados sobre el control osmótico a través de la liberación por la neurohipófisis de vasopresina (Miller y Moses, 1.977; Robertson, 1.977), han mostrado que en el hombre normal, el punto medio de osmolaridad plasmática es de 281,7 mOsm/kg y que la liberación de VP se iniciaba en cuanto que la infusión de suero salino hipertónico elevaba la osmolaridad a 287,3 mOsm/Kg., valor denominado umbral osmótico. Por encima de este valor, la secreción de VP aumenta rápida y progresivamente junto con el aumento de la osmolaridad plasmática. El aporte de agua inhibe la liberación de VP. Este preciso sistema regulador actúa por medio de un sistema neuronal osmorreceptor hipotalámico (Anderson y col., 1.975).

1.8.1.- REGULACION DEL VOLUMEN

Cuando ocurre un descenso del volumen sanguíneo por cualquier causa, en grado suficiente, ocurre una liberación de VP (Robertson, 1.977). En condiciones normales, la osmolaridad del plasma es el determinante principal de la secreción de VP, pero una depleción de volumen cuantiosa puede soslayar el control osmorreceptor. Con grados menores de modificación de volumen, el control osmótico se efectúa con precisión, pero hay un cambio del "punto osmótico establecido" ya que se requiere un umbral menor para desencadenar la secreción de VP en el animal con depleción de volumen.

1.8.2.- STRESS

Verney al estudiar la regulación de agua en el perro, observó el marcado efecto del stress emocional sobre la actividad antidiurética. En general, se había creído que los humanos y las ratas también liberaban VP en respuesta al stress emocional. Utilizando métodos de inmunoanálisis, estudios fisiológicos llevados a cabo en el hombre, han mostrado que el dolor u otros estímulos estresantes raramente influyen en el nivel plasmático de VP (Robertson, 1.977).

1.9.- DEBITO DE OXIGENO

La presencia de oxígeno no es indispensable para la contracción muscular, sino que ésta puede ser mantenida mientras el músculo disponga de enlaces fosfato de alta energía.

La energía necesaria para reconstituir los enlaces de alta energía puede provenir de la glucólisis, que consiste en la fosforilación y desdoblamiento de la glucosa en piruvato o lactato bajo condiciones anaeróbicas.

A medida que aumenta la intensidad del ejercicio y el individuo se acerca al estado de agotamiento, el sistema cardiopulmonar, encargado de llevar oxígeno a los tejidos activos, se hace progresivamente menos capaz de responder a las demandas crecientes de oxígeno. Así el VO_2 del individuo se mantiene elevado en un tiempo que va de varios minutos hasta una o dos horas de finalizar el ejercicio físico. Todo el oxígeno que se consume después del ejercicio, por encima de los niveles basales, se conoce como débito de oxígeno.

Si bien el débito de oxígeno, por lo general, es atribuido al costo del proceso oxidativo y a la retrasformación del ácido láctico (que es el producto metabólico final del desdoblamiento anaeróbico de los hidratos de carbono) no se ha encontrado correlación muy estable entre el contenido de ácido

láctico y el volumen del débito de oxígeno. A niveles bastante bajos de ejercicio se observa un débito de oxígeno sin ningún aumento en la concentración sanguínea de lactato.

El aumento del débito de oxígeno hasta un nivel crítico parece ser un factor importante, pero poco conocido, que limita la duración de un ejercicio y representa una de las formas de agotamiento. Es evidente que si el atleta intenta realizar un esfuerzo prolongado, es necesario que su débito de oxígeno no se eleve continuamente. Así deberá regular su ritmo de manera que el aporte de oxígeno a los tejidos no sea inferior a los requerimientos. Cuando el ejercicio se hace intenso, el débito de oxígeno aumenta con la duración del mismo (Selkurt, 1.971).

1.10.- RESUMEN Y PLANTEAMIENTO

El descubrimiento de los opiáceos endógenos y el reconocimiento de su importancia en la fisiología cerebral, homeostasis y regulación neuroendocrina ha sido uno de los grandes episodios de la biología moderna (Hughes, 1.975). Inicialmente se postuló que su función principal era la de analgésicos endógenos debido a que se unen específicamente a los mismos receptores utilizados por la morfina (Hughes, 1.975; Terenius y col., 1.975; Guillemin y col., 1.976)

Posteriores estudios les han atribuido otras funciones, incluyendo una dimensión endocrina (Morley, 1.981; Cooper y col., 1.982).

La molécula de beta-END, así como la de ACTH, provienen de la hidrólisis enzimática de un precursor de 31.000 daltons, la proopiomelanocortina. Se ha postulado que tras la hidrólisis de este precursor en la células de la adenohipófisis, el ACTH y la beta-END son secretadas simultáneamente a la sangre (Nakao y col., 1.979).

El ejercicio físico produce un incremento de los niveles séricos de beta-END y ACTH (Fraiola y col., 1.980; Carr y col., 1.981). Sin embargo, la significación fisiológica de este aumento se desconoce. Se ha sugerido que su causa pudiera ser el stress inespecífico que produce todo ejercicio severo, aunque es un problema aún no aclarado (Fraiola y col. 1.980; Carr y col., 1.981; Mueller, 1.981).

Recientes estudios han sugerido la posibilidad de que la beta-END juega un papel importante en la fisiología del ejercicio físico, al parecer con independencia del stress originado por éste (Markoff y col., 1.982). Las principales observaciones que soportan esta hipótesis son las siguientes:

- 1.- Se ha descrito que los corredores entrenados durante largo tiempo (años) tienen mayor facilidad para aumentar los niveles séricos de beta-END

que los individuos no entrenados al realizar ejercicio físico (Carr y col., 1.981). En principio esto indicaría que la beta-END no está relacionada con el "stress" producido por el ejercicio, ya que para un nivel determinado de esfuerzo físico, el stress es mayor en el no entrenado que en el atleta.

- 2.- La existencia de un síndrome de abstinencia que se presenta tras la supresión brusca del ejercicio en muchos corredores que practican la carrera por largo tiempo y diariamente. Los síntomas consisten en depresión, malestar, irritabilidad y necesidad de correr de nuevo pasado un periodo de días variable (Beakeland, 1.970). Se ha sugerido que esta sintomatología pudiera estar relacionada con los niveles circulantes de beta-END (Dienstbier y col., 1.980; Markoff y col., 1.982). Contrariamente a lo que se pensó tras el descubrimiento de los péptidos opiáceos, parece estar bien establecido que estos péptidos endógenos producen adicción tras ser inyectados diariamente, produciendo un síndrome de abstinencia al suprimir su administración.
- 3.- El tercero y último aspecto en la relación beta-END y el ejercicio físico es el relacionado con la amenorréa secundaria descrita en ciertas atletas de fondo. Parece que estos trastornos están en función directa al kilometraje semanal

que hacen estas atletas (Carr y col., 1.981). Hoy se desconocen los mecanismos por los cuales esta amenorréa ocurre, pero se ha sugerido que es un mecanismo a nivel hipotalámico. Así, se ha demostrado la acción inhibitoria que tienen los péptidos opiáceos sobre la liberación de LHRH (Hompes y col., 1.982). Es posible, por tanto, que unos niveles circulantes elevados de beta-END fueran la causa, al menos en parte, de esta amenorréa (Cooper y col., 1.982; Hompes y col., 1.982).

Estos tres puntos sugieren pues que, además de su papel en los mecanismos de adaptación al stress, la beta-END podría jugar un papel importante en relación con el ejercicio físico. También, como puede inferirse en los puntos 1º y 2º, la beta-END podría tener unos efectos centrales relacionados con la adaptación psíquica al esfuerzo físico.

OBJETIVOS DEL PRESENTE ESTUDIO

Con objeto de estudiar los efectos del ejercicio físico sobre los niveles circulantes de beta-END y ACTH, la presente investigación se ha centrado en los siguientes puntos:

- 1.- Determinación de los niveles de beta-END y ACTH en condiciones basales y tras el ejercicio físico

en un grupo de atletas con marcas de tiempo nacionales o próximas. Ya que las adaptaciones metabólicas son distintas dependiendo de la duración del ejercicio, los atletas se subdividieron en cuatro subgrupos: velocidad, medio fondo, fondo y media maraton. Cada uno de los atletas fué incluido en el grupo para el cual se entrenaba regularmente (Ver material y métodos AP 2.2).

- 2.- Para estudiar una posible correlación entre los péptidos objeto de este estudio y el combustible para el ejercicio físico o alguno de los metabolitos musculares se determinaron además los ácidos grasos libre, glucosa y lactato circulantes.
- 3.- Las posibles modificaciones en los niveles de beta-END y ACTH durante el ejercicio físico podrían estar relacionadas con la transpiración y hemoconcentración que se produce a consecuencia del ejercicio, especialmente en aquel de larga duración. Por ello, se ha determinado: osmolari-
dad, hematocrito, hemoglobina, volumen plasmático y proteínas plasmáticas totales.
- 4.- Con objeto de examinar las posibles diferencias en los niveles de beta-END y ACTH entre individuos no entrenados y atletas, en condiciones basales y tras el ejercicio físico, se preparó además un grupo control formado por individuos que no practicaban regularmente ningún ejercicio. Ambos grupos (no entrenados y atletas) fueron

sometidos a una prueba física común. Los resultados de esta prueba podrían confirmar: a) si la secreción de beta-END y ACTH es dependiente del stress, y b) si los atletas tienen una secreción facilitada de estos péptidos como ha sido previamente sugerido (Carr y col., 1.981).

- 5.- Para estudiar una posible correlación entre el síndrome de abstinencia de los atletas y los niveles de beta-END y ACTH, se siguió la evolución de un grupo de atletas que habían suprimido bruscamente la práctica del ejercicio físico. Estos individuos fueron sometidos, además de a un examen bioquímico, a otro psicológico.

Parchemin



L. A. P.
L. A. P.

2.- MATERIAL Y METODOS

2.1.- MATERIAL

2.1.1.- MATERIAL DESECHABLE

Para la extracción de muestras y posterior análisis de las mismas se ha empleado el siguiente material:

- a) Jeringas de 2,10 y 20 ml. (Luer).
- b) Puntas de plástico para pipetas (Socorex).
- c) Tubos para recogida de sangre (Eurotubo KE-5 ml. EDTA Dipotásico).
- d) Tapones metálicos (Serotap).
- e) Tubos de Polipropileno de 10 y 3 ml. (PP 10 y PP 3).
- f) Tubos de 12 x 75 y 16 x 100 mm. (Corning Pirex).
- g) Tubos graduados de centrifuga (VQI Trimex).
- h) Tubos Hematocrito (Blaubrand Ionodur Vestern).
- i) Pipeta automática 0,2 ml. (Corning).
- j) Pipetas de vidrio de doble aforo de 2 y 10 ml..
- k) Micropipeta ajustable automática de 50 - 200 μ l. - (Socorex).
- l) Micropipeta ajustable automática de 200 - 1.000 μ l. (Socorex).
- m) Pipeta automática de 5.000 μ l para dispensar 100 μ l (Hamilton).

2.1.2.- MATERIAL INVENTARIABLE

Para el tratamiento de las muestras y determinación de los parámetros se han empleado los siguientes aparatos:

- a) Agitador rotativo (Pacisa).
- b) Rotor (Selecta).
- c) Agitador, Mod. 30 Mixo Tub (Gricel).
- d) Balanza de precisión (A.Sauter KG 414).
- e) Centrífuga (Beckman TJ - 10).
- f) Centrífuga refrigerada (Jouan K - 101).
- g) Fotocolorímetro (Bausch y Lomb Mod.Spectronic 710)
- h) Osmómetro automático (Osmette A).
- i) Contador Gamma. LKB Mod. Wallac 1.280 Ultrogamma.

2.1.3.- REACTIVOS EMPLEADOS

Los reactivos empleados en el análisis y extracción de las muestras fueron los siguientes:

- 1) Acido palmítico, p.a. (Merk) ... 12,82 mg./100 ml. de cloroformo.
- 2) Acido tricloroacético (Merk) ... 10 %
- 3) Urea (Merk).
- 4) A. clorhídrico (Merk).
- 5) Metanol (Merk).
- 6) Cloroformo (Merk).

2.2.- MUESTRAS UTILIZADAS Y GRUPOS EXPERIMENTALES.

Para los experimentos realizados en esta tesis se han utilizado sangre total, plasma y suero de atletas varones, de edad comprendida entre los 16 y los 37 años.

Los resultados obtenidos han sido comparados con un grupo control, formado por varones aparentemente sanos, de edad similar a los atletas, y que no se entrenaban ni practicaban regularmente ningún deporte. Los cuatro grupos experimentales fueron los siguientes:

C (n=6). Grupo control.- Los componentes de este grupo eran varones de edades comprendidas entre los 18 y los 22 años. No se entrenaban físicamente para la práctica de ningún deporte.

A_{1,2} (n=15). Grupo de corredores de fondo.- Atletas de edades comprendidas entre los 18 y los 37 años. Todos ellos se entrenaban regularmente para realizar pruebas de 5.000 metros, 10.000 metros y maratón. El entrenamiento previo mínimo fué de 6 meses.

B_{1,2} (n=5). Grupo de corredores en abstinencia de ejercicio físico.- Sus componentes fueron atletas del grupo anterior que se ofrecieron a dejar de entrenarse durante aproximadamente dos semanas, con el fin de que pudiera extraérseles sangre a los 0, 3, 6 y 9 días tras la interrupción brusca del entrenamiento.

A_3 (n=6). Grupo de corredores de medio fondo.- Varones con edades comprendidas entre los 17 y los 24 años. Los atletas de este grupo se entrenaban regularmente para realizar pruebas de 800 y 1.500 metros. Todos ellos tenían un entrenamiento previo mínimo de 6 meses.

A_4 (n=8). Grupo de corredores de velocidad.- Varones con edades comprendidas entre los 16 y los 24 años. Los componentes de este grupo se entrenaban regularmente para la realización de pruebas de 100 y 200 metros, desde un mínimo de 6 meses antes de realizar las extracciones de sangre.

A todos estos grupos se les extrajo sangre tal como se describe posteriormente, siguiendo el siguiente protocolo:

1.- A todos los sujetos de todos los grupos se les tomó una muestra basal tras ayunas de 8 horas.

2.- A los corredores de los grupos A_1 , A_2 , A_3 y A_4 , se les extrajo sangre tras la realización de la prueba específica de cada grupo.

3.- A todos los sujetos, tanto del grupo control (C), como de los corredores del grupo $A_{1,2}$, se les extrajo sangre antes y después de una prueba común para todos ellos, consistente en correr 3.000 metros a un ritmo que pudiera ser mantenido por los

no entrenados.

4.- A los componentes del grupo B_{1,2'} se les extrajo sangre antes del inicio de la abstinencia del ejercicio físico, y a los 3, 6 y 9 días tras la interrupción del entrenamiento. Igualmente se les sometió al test psicológico POMS.

Los atletas antes de la prueba, respondieron al siguiente cuestionario:

- Nombre.
- Edad.
- Enfermedades previas.
- Años de práctica deportiva.

Asímismo, en una ficha personal, se anotaron rutinariamente los siguientes datos:

- 1.- Prueba específica para la que se entrenaba regularmente.
- 2.- Marca propia.
- 3.- Marca nacional.
- 4.- Estatura.
- 5.- Peso antes de la prueba.
- 6.- Peso posterior a la prueba.
- 7.- Hora extracción basal.
- 8.- Hora extracción posterior a la prueba.
- 9.- Tiempo invertido en el recorrido previo a la 2ª extracción de la sangre.

2.2.1.- DESARROLLO DE LAS PRUEBAS

Las pruebas específicas y común se realizaron en las pistas de atletismo del Estadio de la Juventud, Camino de Ronda, s/n, con conocimiento de la Federación Española de Atletismo y con la ayuda técnica del entrenador federado, D.Santiago Pecete, que supervisó la realización de las mismas.

2.2.2.- EXTRACCION DE LA SANGRE

Las extracciones fueron realizadas siempre por la mañana, entre las 10 y las 13 horas, para evitar posibles variaciones circadianas.

El volumen de cada extracción fué de 16 ml. de sangre que, inmediatamente, se repartía en cuatro tubos como sigue:

1 ml. en tubos de plástico sin anticoagulante, para la obtención del suero.

15 ml. repartidos en tres tubos conteniendo EDTA Dipotásico como anticoagulante y 100 μ l. de Aprotinina (Trasylol equivalente a 2.000 UI) que se añadía para preservar a los péptidos de su posible degradación por las enzimas circulantes.

Una vez repartida la sangre en los distintos tubos, éstos eran inmersos en agua fría (4°C)

y transportados a nuestro laboratorio lo más rápidamente posible.

Para la obtención del suero, se dejó retraer el coagulo a temperatura ambiente y se centrifuga a 2.000 rpm. durante 10 minutos, procediendo posteriormente a su análisis.

De los otros tres tubos, se tomó una alícuota de sangre total para el análisis de Hb y He.

El resto de la sangre era centrifugada inmediatamente, dividiendo el plasma obtenido en dos partes, una de ellas se utilizó inmediatamente para el análisis de glucosa, ácidos grasos, lactato, osmolaridad y proteínas plasmáticas totales.

2.2.3.- ALMACENAMIENTO Y CONSERVACION DE LAS MUESTRAS

El volumen restante de plasma (aproximadamente 4 ml.) se repartía en tubos y se congelaba a -20° C. A esta temperatura se mantuvieron los tubos hasta el día del análisis del ACTH o de la beta-END.

2.3.- DETERMINACIONES ANALITICAS

2.3.1.- METODO DE DETERMINACION DE LA GLUCOSA

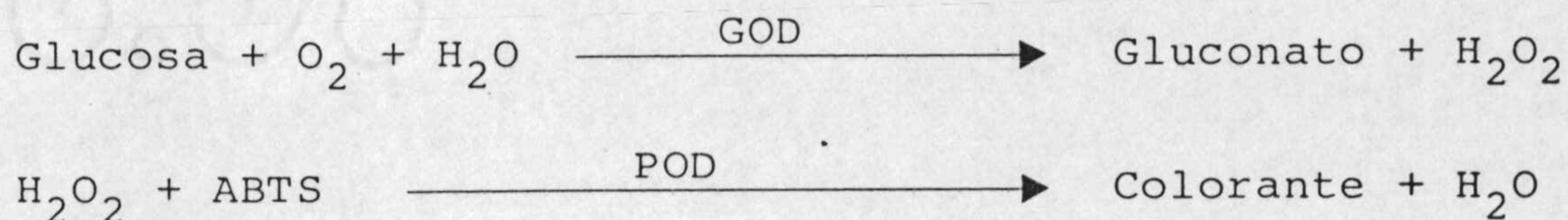
Numerosos métodos existen para la determinación de glucosa. El método empleado por nosotros es el Werner, Rey y Wielinger, 1.970.

Las dos técnicas que se utilizan actualmente con mayor asiduidad son: la técnica de la O-toluidina y las basadas en reacciones enzimáticas.

1ª.- La técnica de la O-toluidina, sea automática o manual, se basa en la reacción que se establece entre la O-toluidina y la glucosa en presencia de ácido acético glacial, dando lugar a la formación de N-glucosilamina, de color azul-verdoso y cuya absorbancia podemos medir.

2ª.- Las técnicas basadas en reacciones enzimáticas, son las más utilizadas actualmente. En la presente investigación se ha empleado el test colorimétrico de la glucosa oxidasa (Boehringer). Este método tiene como ventajas:

- a) La reacción es rápida.
- b) Es un método exacto y reproducible, que se presenta preparado en forma de kit comercial.

2.3.1.1.- PRINCIPIO DEL METODO

La enzima glucosa oxidasa (GOD) oxida a la glucosa en gluconato más H_2O_2 . A medida que el H_2O_2 se va formando, actúa la enzima peroxidasa (POD), y en presencia de un aceptor de O_2 cromogénico (ABTS), se forma cromógeno que se mide por fotocolorimetría. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de glucosa.

2.3.1.2.- DESCRIPCION DE LA TECNICA

Se utilizó 0,1 ml. del plasma obtenido como se ha descrito anteriormente. Se desproteíniza con 1 ml. de ácido perclórico, 0,33 N, en un tubo de centrífuga.

A continuación se agita dejando reposar diez minutos. Después se centrifuga a 2.500 rpm. durante cinco minutos aproximadamente.

En tubos de ensayo (blanco, standard y prueba) se añaden 5 ml. de la solución de tampón/enzimas/cromógeno. Esta solución preparada por la casa Boehringer, se diluye en 1.000 ml. de agua destilada. Es estable seis semanas a 4° C.

Al blanco se añade 0,1 ml. de agua destilada, al standard, 0,1 ml. de standard de glucosa y a la prueba, 0,1 ml. del sobrenadante de la desproteinización.

A continuación se incuba a 37° C durante 20 minutos.

Esta determinación se puede efectuar en sangre y suero igualmente.

2.3.1.3.- CALCULO DE LOS RESULTADOS

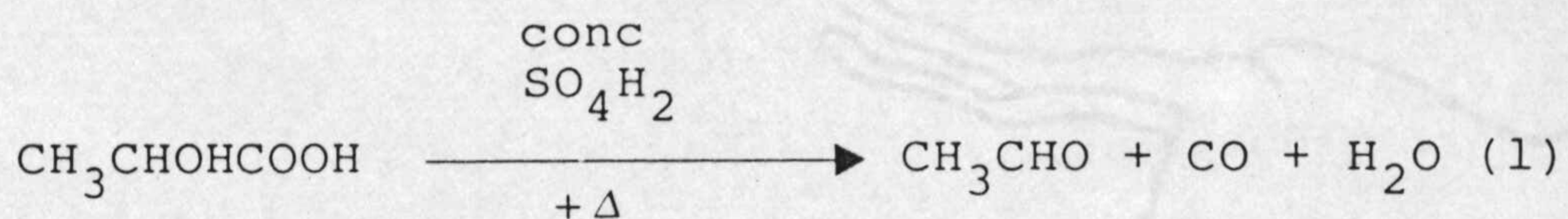
Se mide en longitud de onda 436 nm. las extinciones de la prueba y del standard frente al valor en blanco. La concentración de glucosa se calcula según la expresión siguiente:

$$C = 100 \times \frac{E_{\text{prueba}}}{E_{\text{standard}}} \text{ mg./100 ml.}$$

2.3.2.- METODO DE DETERMINACION DE LACTATO

Entre los múltiples métodos existentes para la determinación de lactato hemos empleado el de Noll y Bergmeyer (1.974).

La mayoría de los procedimientos analíticos se han basado en la determinación de uno de los productos de reacción en cualquiera de las dos reacciones siguientes:



Las técnicas utilizadas para la estimación del acetaldehído son las siguientes:

- A) Titulación yodométrica.
- B) Determinación fotométrica.

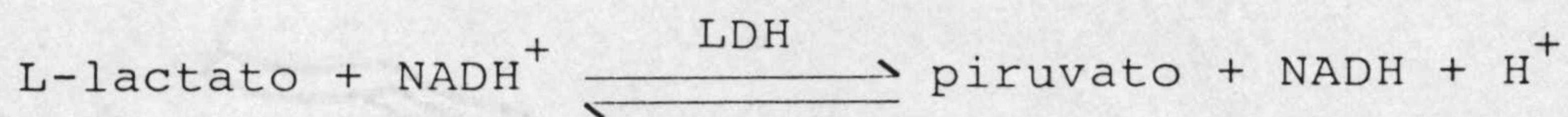
Puede determinarse el ácido láctico mediante el empleo del ácido láctico deshidrogenasa (LDH) y el dinucleótido de nicotinamida-adenina (NAD). La cantidad de NAD reducido a NADH, a medida que el lactato es oxidado enzimáticamente a piruvato, se mide mediante la determinación del incremento en la absorbancia. En estos métodos el piruvato existente inicialmente en la muestra es destruido por H_2O_2 ó unido a semicarbácida o hidracina llevando las reacciones hasta su finalización.

El método de Noll y Bergmeyer ha demos-

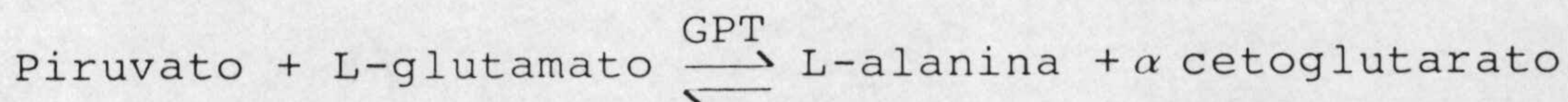
trado ser muy fiable en sus resultados. La disponibilidad de equipos comerciales que utilizan este método ha aumentado extraordinariamente su uso. Tanto la especificidad, inherente a los métodos enzimáticos, como su simplicidad, hacen que sea el método de elección.

2.3.2.1.- PRINCIPIO DEL METODO

Se basa en la catálisis de la reacción de lactato más NAD^+ que en presencia de lactato deshidrogenasa (EC1.1.1.27), se transforma en piruvato + $\text{NADH} + \text{H}^+$.



La aparición de NADH propiciada por esta reacción puede determinarse midiendo la extinción a 340, 334 ó 365 nm. Siendo el NADH equivalente a la concentración de lactato.



2.3.2.2.- DESCRIPCION DE LA TECNICA

Obtención y estabilidad de la solución reactiva: disolver 4,6 mmol/l del coenzima NAD en

5 ml. de tampón de carbonato 0,5 mol/l, pH = 10 y L-glutamato 63 mmol/l. Estabilidad: 6 horas a + 2-8° C.

Método de determinación a 365 nm:

Pipetear a la solución reactiva 0,1 ml. de plasma. Mezclar agitando, y a continuación pipetear de esta solución blanco de prueba 2,50 ml. vertiéndolos sobre un tubo de centrífuga. A continuación pipeteamos 0,05 ml. de agua destilada sobre el blanco de prueba e igual cantidad de enzima LDH \geq 1.632 U/ml. y GPT \geq 102 U/ml. sobre el tubo de centrífuga. Finalmente añadimos 0,05 ml. al blanco de prueba.

Todas las soluciones empleadas en este análisis las sirve ya preparadas en forma de kit comercial la casa Boehringer.

Mezclamos y al cabo de 10 - 15 minutos leer sucesivamente las extinciones del blanco de prueba E_{BP} y de la prueba E_P en la misma cubeta.

2.3.2.3.- CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$E_P - E_{BP} = \Delta E$$

$$\Delta E \times 137,9 = \text{concentración (c) mg/100 ml.}$$

$$\Delta E \times 15,3 = c \text{ (mmol/l)}$$

2.3.3.- METODO DE DETERMINACION DE ACIDOS GRASOS NO ESTERIFICADOS

Se emplean numerosos métodos en la determinación de ácidos grasos no esterificados (FFA). El método de determinación debido a Duncombe (1.964) determina los ácidos no esterificados mediante la absorción fotocolorimétrica de sales de cobre frente a un valor standard y un blanco, siendo éste el adoptado por nosotros.

Se emplean técnicas fluorométricas para la determinación de los FFA que utilizan como indicador para detectar el punto final β -metilumbeliferona; asimismo se han propuesto técnicas titrimétricas que recurren para la detección del punto final al azul timol, a la fenolftaleina, o a un pH-metro.

El método utilizado en la presente investigación ha sido un método fotocolorimétrico. Este método tiene como ventajas más destacadas:

- A) Reacción rápida.
- B) Es un método de gran precisión y reproducible, que se presenta preparado comercialmente (Boehringer).

2.3.3.1.- PRINCIPIO DEL METODO

Se basa en la transformación de los ácidos grasos no esterificados en sales de cobre solubles en cloroformo, midiéndose el cobre en la fase orgánica mediante una reacción de color. De la concentración del cobre puede calcularse la concentración de los ácidos grasos no esterificados.

2.3.3.2.- DESCRIPCION DE LA TECNICA

Una vez extraída la sangre y obtenido el suero como se describe anteriormente, se toma de éste 0,2 ml. con pipeta automática vertiéndolos sobre 5 ml. de cloroformo, añadiendo 1 ml. de solución compuesta de tampón/nitrato de cobre (tampón de trietanolamina 0,45 mol/l.; pH 7,8 y nitrato de cobre 0,27 mol/l.). La solución standard se prepara de igual forma que la prueba sólo con la salvedad de que se sustituyen los 0,2 ml. de suero por la misma cantidad de standard. Esta, la solución standard, se prepara de la siguiente forma:

Acido palmítico, p.a.,	12,82 mg.
ó	
Acido esteárico, p.a.,	14,22 mg.
Cloroformo, p.a.,	100 ml.

Esta solución se almacena en un recipiente cerrado y protegida contra la luz. Estable

seis meses a + 15-25 °C. El blanco se prepara de igual forma sólo que los 0,2 ml. de suero se sustituyen por agua destilada en igual cantidad.

A continuación se agita fuerte, durante 10 minutos y se centrifugan 5 minutos. La capa acuosa, azul-verdosa (incluso la capa de proteína) se succiona con cuidado y completamente a ligero vacío de trompa de agua con una pipeta de punta finamente estirada.

Pipetear en tubos de ensayo: 2 ml. de la capa de cloroformo en blanco, standard y prueba y 0,2 ml. en blanco, standard y prueba de dietilditiocarbaminatos 9 mmol/l.

Mezclar y a los 10 minutos medir la extinción de la prueba (E_p) y la extinción del standard (E_s) frente al blanco, a 436 nm.

2.3.3.3.- CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{Concentración} = 0,5 \times \frac{E_p}{E_s} \quad (\text{mval}/1.000 \text{ ml.})$$

2.3.4.- METODO DE DETERMINACION DE PROTEINAS PLASMATICAS TOTALES

La concentración de proteínas en una so-

lución se expresa universalmente en forma de peso de las mismas por unidad de volumen. Así pues, todos los métodos de determinación deberán estar estandarizados, en última instancia, por procedimientos gravimétricos. Aunque existen procedimientos gravimétricos, su complejidad y el carácter higroscópico de las proteínas deshidratadas impide su empleo como procedimientos de rutina. Incluso en el caso de las determinaciones gravimétricas, no es tajante el camino a seguir para obtener los resultados, ya que, antes de escogerlo, hay que decidir si se incluye o no dentro del peso total de proteínas, el que corresponde a la fracción proteica de las lipoproteínas y de las proteínas conjugadas con hidratos de carbono. Se ha propuesto establecer como base de determinación el contenido en polipéptidos. Esta solución es válida para algunas técnicas de determinación de proteínas.

El procedimiento clásico para la determinación de proteínas totales, sigue siendo la dosificación del nitrógeno proteico. Se usa muy poco la técnica de Dumas, en la cual se determina el N como N_2 a causa de que no permite fácilmente la determinación de las proteínas totales. Por el contrario, el procedimiento de Kjeldahl ha sido ampliamente aceptado como método de referencia para la determinación de proteínas totales en líquidos biológicos.

El método seguido por nosotros es el de Kingsley, modificado por Weichselbaum, 1.946, método éste que permite realizar determinaciones de un gran número de muestras en corto plazo de tiempo y cuya precisión es manifiesta.

2.3.4.1.- PRINCIPIO DEL METODO

Las proteínas totales se han determinado en plasma, por el método de Biuret (según Kingsley), cuyo fundamento se basa en una solución de proteínas con iones Cu^{++} en un medio moderadamente alcalino, se forma un complejo quelato coloreado de composición desconocida.

2.3.4.2.- DESCRIPCION DE LA TECNICA

Mezclar 2 ml. de agua con 100 μl . de suero, blanco o patrón y 8 ml. de reactivo. Dejar 30 minutos en reposo y efectuar las lecturas a 550 nm. frente al blanco.

Composición del reactivo:

Hidróxido sódico	10 g.
Ioduro potásico	5 g.
Sulfato cúprico	15 g.
Tartrato sódico potásico	45 g.
Agua destilada c.s.p.	1000 cc.

2.3.4.3.- CALCULO DE LOS RESULTADOS

$$\text{Concentración} = \frac{\text{D.O. problema}}{\text{D.O. patrón}} \times (\text{patrón})$$

2.3.5.- METODO DE DETERMINACION DEL HEMATOCRITO

2.3.5.1.- DESCRIPCION DE LA TECNICA

Ya mezclada muy bien, la sangre recogida de la manera descrita, se aspira con una jeringa que lleva acoplada un trocar y se descarga en el tubo de hematocrito. Para ello se introduce el trocar hasta el fondo del tubo de hematocrito y se retira poco a poco mientras se oprime el émbolo de la jeringa y la sangre sale con lentitud. La lentitud se requiere para que no se formen burbujas de aire en el tubo de hematocrito. El tubo de hematocrito se llena exáctamente hasta el cero, a la izquierda de la escala. La centrifugación del tubo de hematocrito tiene por objeto asegurar un aglomeramiento tan completo de los glóbulos que no deje plasma entre ellos, pero sin que algunos de sus integrantes se deformen o sean expulsados. Para obtener una aglomeración óptima de los glóbulos rojos utilizamos una fuerza de 2.600 g. Esta fuerza (fuerza centrífuga relativa (F.C.R.) , expresada en número de veces la gravedad) depende de la distancia entre la partícula y el centro de revolución (radio, r), y del número de revoluciones por minuto (r.p.m.). Esta relación se indica con la fórmula:

$$F.C.R. = (0,00001118) \times (r) \times (r.p.m.)^2$$

El radio (r) es la distancia desde el

centro de la centrífuga hasta el fondo del tubo de hematocrito, colocado en dirección horizontal en la copa de la centrífuga. Con un cabezal apropiado y en una centrífuga internacional nº 2 este radio es de 22,5 cm. que, a 3.000 r.p.m., produce 2.264 g.. La centrifugación a esta velocidad se hace 30 minutos para asegurar una aglomeración completa.

Como pueden emplearse centrífugas de distancia radial muy distinta, para cada centrífuga se determinará la velocidad necesaria para obtener la F.C.R. deseada.

$$\text{r.p.m.} = \sqrt{\frac{202.146.700}{r}}$$

2.3.5.2.- CALCULO DE LOS RESULTADOS

Una vez terminado el tiempo de centrifugación, procedemos a la lectura del hematocrito que vendrá indicado por la escala en tantos por cien del tubo de hematocrito y que corresponderá al cambio entre las dos fases: celular y acelular.

2.3.6.- METODO DE DETERMINACION DE HEMOGLOBINA

Existe diversos métodos para la deter-

minación de hemoglobina. El método fotométrico con la cianmetahemoglobina determina la hemoglobina mediante la absorción de una cianmetahemoglobina problema frente a una cianmetahemoglobina patrón.

Otros laboratorios utilizan técnicas de tipo químico, basándose en la determinación del hierro globular; otros, en la capacidad de absorción de gases, algunos se fundan en la Espectrometría, en la polarimetría y en determinaciones fotoeléctricas.

Los más empleados actualmente son de índole fotocolorimétrica, y estriban en deducir del color de una muestra de sangre diluida la cantidad de pigmento hemoglobínico que contiene. Así el método más ampliamente utilizado en la actualidad, es el de la cianmetahemoglobina (Ciscar y col., 1.972). Este método tiene como ventajas más destacadas:

- 1) Reacción rápida.
- 2) Una vez establecido el color, éste es estable.
- 3) Las soluciones son poco tóxicas en comparación con otras técnicas.
- 4) Se miden todos los tipos de hemoglobina por igual.

2.3.6.1.- PRINCIPIO DEL METODO

El método se basa en la transformación

de hemoglobina en cianmetahemoglobina, haciéndola reaccionar con una serie de reactivos que se describen a continuación. Una vez finalizada la reacción, la determinación se realiza comparando por fotometría la absorción de la muestra frente a una patrón. Como se ha indicado anteriormente, todas las disoluciones -patrones y muestras- son muy estables.

2.3.6.2.- DESCRIPCION DE LA TECNICA

Una vez extraída la sangre, con una pipeta tipo Sahli se recogen 0,02 ml. de sangre, y se vierten sobre un tubo que contiene 5 ml. de la solución de Drabkin (Drabkin y col., 1.932 citado por Ciscar y col., 1.972). Esta solución se prepara como sigue:

Carbonato sódico	1 g.
Cianuro potásico	50 mg.
Ferricianuro potásico	200 mg.
Agua destilada, c.s.p.	1 l.

Todos los productos tienen una pureza de "reactivo". La solución Drabkin debe prepararse de nuevo mensualmente, y guardarse en frascos de color topacio al abrigo de la luz. Su color es amarillo pálido, y en caso de enturbiamiento, debe desecharse y prepararse de nuevo. El cianuro potásico, aunque altamente venenoso, no es peligroso a la baja concentración empleada en este reactivo. Comercialmente

se expende una mezcla de los reactivos a los que sólo hay que añadir agua ("Aculute", Ortho Pharmaceutical).

La sangre se vierte sobre la solución de Drabkin, y la pipeta se enjuaga tres veces con dicho líquido. Mezclamos agitando y se esperan diez minutos hasta hacer la lectura colorimétrica. Como blanco se utiliza la solución diluyente, o bien agua destilada y la lectura se realiza en un fotocolorímetro a 540 nm.

2.3.6.3.- CALCULO DE LOS RESULTADOS

La extinción del patrón de Cianmetahemoglobina equivale a 60 mg. de hemoglobina por 100 ml. de disolución, lo que corresponde a una dilución de sangre al 1/251, conteniendo 15 g. de hemoglobina por 100 ml. El resultado final se calcula según la siguiente fórmula:

Concentración del patrón x dilución de la muestra x

$$x \frac{\text{extinción problema}}{\text{extinción patrón}} = \text{g. de Hb/100 ml.}$$

2.3.7.- METODO DE DETERMINACION DEL VOLUMEN PLASMATICO

Existen varios métodos para la determinación del volumen plasmático, sin embargo, los dos métodos más exactos y sencillos son el Adolph (Adolph y col., 1.947) y el descrito por Dill (Dill y col., 1.974).

El método de Adolph postula que solamente las proteínas libres se filtran y dejan la corriente sanguínea, y que el aumento en la concentración de proteínas en plasma puede ser usada para calcular el tanto por ciento de disminución del volumen de plasma. Sin embargo, Dill y colaboradores han mostrado que este postulado no es válido para todos los sujetos (Dill, D.B. y cols., 1.967).

2.3.7.1.- PRINCIPIO DEL METODO

El método utilizado en el presente estudio fué el descrito por Dill. Su fundamento es que cuando un hombre está agudamente deshidratado, el volumen de plasma disminuye la proteína de los glóbulos rojos, la hemoglobina, no puede dejar las células rojas y mucho menos aún la sangre, esto sugiere el uso de medidas de la concentración de hemoglobina en sangre antes y después de la deshidratación para estimar los tantos por ciento de cambio en los volúmenes de plasma y glóbulos rojos.

2.3.7.2.- DESCRIPCION DE LA TECNICA

Tras la recogida de la sangre como se describe en el apartado 2.2., el hematocrito y la hemoglobina fueron medidos como expusimos en sus correspondientes métodos de determinación.

2.3.7.3.- CALCULO DE LOS RESULTADOS

Los cambios en porcentaje en el volumen de sangre (Bv), volumen de células rojas (Cv), y volumen de plasma Pv, fueron calculados dados los valores de hemoglobina (Hb) y hematocrito (Hct) usando las relaciones que siguen. Los subíndices B y A se refieren a antes y después respectivamente y BV_B se tomó como 100.

$$BV_A = BV_B (Hb_B / Hb_A)$$

$$CV_A = BV_A (Hct_A)$$

$$PV_A = BV_A - CV_A$$

$$\Delta BV, \% = 100 (BV_A - BV_B) / BV_B$$

$$\Delta CV, \% = 100 (CV_A - CV_B) / CV_B$$

$$\Delta PV, \% = 100 (PV_A - PV_B) / PV_B$$

2.3.8.- METODO DE DETERMINACION DE LA OSMOLARIDAD

La determinación de la osmolaridad tiene un considerable valor para determinar las alteraciones del balance de agua y electrolitos. Las propiedades coligativas de las soluciones, es decir, aquéllas que dependen del número de partículas disueltas más que de la clase de tales partículas, son el punto de congelación, el punto de ebullición, la presión de vapor y la presión osmótica. Por tanto, la osmolaridad de un líquido biológico puede determinarse midiendo el punto de congelación, la presión de vapor o la presión osmótica. Para las medidas clínicas se selecciona siempre la determinación del punto de congelación por su mayor simplicidad.

2.3.8.1.- PRINCIPIO DEL METODO

El osmómetro dispone de un par termoelectrónico y de una varilla agitadora que se introducen en el tubo de muestra. Una bomba impulsa una mezcla anticongelante sobreenfriada ($-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) sobre el tubo de la muestra, que se enfría por debajo del punto de congelación sin solidificarse gracias a que la agitación suave de la varilla impide la cristalización. Alcanzada una temperatura suficientemente baja se produce una agitación brusca que provoca la cristalización inmediata de la muestra. Al mismo tiempo se para la bomba y la muestra queda térmicamente aislada. El calor absorbido por la fusión del hielo

alrededor del par termoeléctrico es función de la osmolaridad de la muestra.

2.3.8.2.- DESCRIPCION DE LA TECNICA

1) Encender el aparato y esperar a que alcance la temperatura de trabajo, lo que queda indicado por el parpadeo del piloto (20 minutos aproximadamente).

2) En un tubo limpio y seco se coloca 1 ml. aproximadamente de solución patrón de 500 mosm. Lavar varias veces la pipeta con solución patrón y depositar 0,2 ml. (ó 2 ml. en tubos grandes) en el tubo de muestra. Introducirlo en el osmómetro y bajar el brazo de medida hasta el tope, la cifra 500 debe aparecer en pantalla, en caso contrario ajustamos con el mando 500.

3) Lavar y secar el par con agua bidestilada y proceder igualmente con la solución patrón de 100 mosm., ajustando con el mando giratorio 100. En esta operación puede quedar ligeramente desajustada la calibración del patrón de 500 mosm., por lo que se repetirá la operación del apartado 2.- hasta que las lecturas sean correctas sin necesidad de ajustar los mandos. Con muestras de 0,2 ml. se admite una variabilidad de ± 2 mosm.. El aparato está calibrado.

2.3.8.3.- CALCULO DE LOS RESULTADOS

El osmómetro indica directamente la osmolaridad de la muestra. El volumen de muestra depositado en los tubos debe ser igual al volumen de los patrones utilizados en la calibración.

2.3.9.- RADIOINMUNOANALISIS DE BETA-END Y ACTH

En la actualidad, la técnica más ampliamente utilizada para determinar la concentración de péptidos circulantes es la técnica del radioinmunoanálisis (RIA), debido fundamentalmente a su alta especificidad. Esta técnica fué desarrollada en 1.959 (Berson y Yallow, 1.968) y con independencia del péptido a medir, consta fundamentalmente de tres pasos:

1) Incubación de la hormona contenida en las muestras problemas y standard, en presencia de hormona marcada y del anticuerpo correspondiente.

2) Separación de la hormona libre de la unidad al anticuerpo.

3) Determinación de la radiactividad - que contiene el complejo antígeno-anticuerpo y cálculo matemático de los valores de la hormona en las muestras problemas, por interpolación de los valores de radiactividad obtenidos, sobre los correspondien-

tes a una curva standard previamente realizada.

La determinación de la beta-END se realizó previa extracción. La determinación del ACTH, sin embargo, se realizó directamente, a partir del plasma de los atletas.

2.3.9.1.- TECNICA PARA EL ANALISIS DE BETA-END

Tanto para la extracción como para el radioinmunoanálisis de beta-END se han utilizado los reactivos servidos por Inmuno-Nuclear, que se presentan comercialmente en forma de kit.

2.3.9.1.1.- EXTRACCION DE BETA-END

Existen diferentes métodos para la extracción de beta-END, (Nakao y col., 1.980; Wardlaw y col., 1.980; Anhut y col., 1.981), no obstante los métodos existentes en la actualidad tienen una primera fase de extracción de beta-LPH del plasma. Esto se debe a que la beta-LPH contiene toda la secuencia aminoacídica de la beta-END, por lo que la mayoría de los anticuerpos utilizados muestran una reacción cruzada con ambos péptidos.

La segunda fase consistente en la extracción de la beta-END plasmática. Algunos autores realizan la extracción con talco (Wardlaw y Franz,

1.979), ácido silícico (Suda y col., 1.978; Holtt y col., 1.978) ó por extracción por cromatografía de columna (Wardlaw y col., 1.980; McLoughlin y col., 1.981). En nuestro caso se ha empleado sílica para su extracción.

Los métodos aquí mencionados serán analizados de un modo crítico en el apartado correspondiente a discusión.

2.3.9.1.2.- EXTRACCION DE BETA-LPH

0,1668 gramos de sefarosa unida al anticuerpo anti-beta-LPH se disuelven en 25 ml. de agua bidestilada y al cabo de 10 minutos se extraen alícuotas de 0,5 ml. con pipeta automática. Durante la extracción el recipiente es agitado continuamente para que la suspensión sea homogénea. Posteriormente se centrifugan los tubos durante 5 minutos. El agua sobrenadante se descarta y se añade sobre el sedimento 1.250 μ l. de plasma. Las muestras utilizadas han de ser previamente descongeladas en un baño de agua fría.

Los tubos se agitan mecánicamente y se les añade una bolita de vidrio, tapándolos con tapones serotap para evitar posibles evaporaciones o la caída de impurezas, y se colocan en la plataforma de un rotor (24 revol./min.) con 45° de inclinación durante 2 horas y media en cámara fría. Las bolitas

de vidrio tienen como misión facilitar el mantenimiento de la sefarosa en suspensión.

Al término de esta primera incubación se sacan las bolas de vidrio y se centrifugan los tubos. Del sobrenadante se toma 1 ml. de plasma, libre de beta-LPH y se le añaden 100 μ l. de ClH 1 M y se agita. Esta acidificación se debe a que la beta-END, como la mayoría de los péptidos, tienden a unirse a los componentes plasmáticos de alto Pm. cuando el pH es alcalino. Así pues, tanto la acidificación como la extracción en columna resuelven este problema que originaría fuertes interferencias durante la realización del RIA.

En el cuadro 1 puede verse la recuperación de beta-END tras la extracción de beta-LPH con sefarosa.

2.3.9.1.3.- EXTRACCION DE BETA-END POR COLUMNAS DE ODS-SILICA

Las columnas de ortodecasil-silica-gel (ODS-sílica) son activadas y lavadas con 5 ml. de metanol y 20 ml. de agua destilada respectivamente. Tras este paso, se vierten sobre las columnas los 1.100 μ l. de plasma acidificado, eluyendo lentamente dicho volumen (durante un tiempo superior a 1 minuto, controlado por cronómetro).

CUADRO 1

ACTIVIDAD INICIAL (CPM)	\bar{x}	σ_{n-1}	ACTIVIDAD TRAS LA INCUBACION CON SEFA- ROSA ANTI BETA-LPH	\bar{x}	σ_{n-1}
2979			2561		
2918			2627		
2996			2660		
2963			2644		
2973			2680		
2903			2716		
2924			2687		
3024			2632		
2931			2679		
3026			2737		
	2963,7	43,8		2662	49

Recuperación de beta-END tras la extracción de beta-LPH con sefarosa anti-beta-LPH. A 10 tubos se les añadió 1.150 μ l. de plasma carente de beta-END y 100 μ l. de beta-END radiactiva, se determinó la radiactividad antes y después de la incubación con sefarosa. Datos expresados en CPM. La recuperación de esta etapa fué de un 89,82 %.

La columna se lava de nuevo con 20 ml. de ácido acético al 4 %, que arrastra gran parte de las sustancias contaminantes no peptídicas. Los péptidos de Pm medio permanecen unidos a la ODS-sílica durante esta fase.

Una vez finalizado este segundo lavado, la beta-END es eluida con 4 ml. de metanol. Para ello, primero se eluyen 3 ml. de dicho alcohol durante un mínimo de 3 minutos, seguido de un último lavado con 1 ml. de metanol. La beta-END se concentra y deseca evaporando el metanol bajo corriente de aire en baño a 36 °C. Los tubos desecados se tapan con parafina y se mantienen en congelador a -20 °C hasta la realización del RIA. Esta fase es imprescindible para que los resultados del RIA sean fiables y reproducibles puesto que se eliminan la mayor parte de las sustancias que pueden interferir en el RIA. No obstante, la pérdida de beta-END es apreciable como puede verse en el cuadro 2, aunque la recuperación obtenida en nuestro laboratorio ha sido superior a la de otros autores (ver apartado de Discusión).

Una vez utilizadas las columnas, éstas pueden regenerarse pasando 5 ml. de uréa 8 M y lavándolas posteriormente con 28 ml. de agua destilada.

2.3.9.1.4.- RADIOINMUNOANALISIS DE BETA-END

Añadimos 1 ml. de tampón borato (pH=8,7)

CUADRO 2

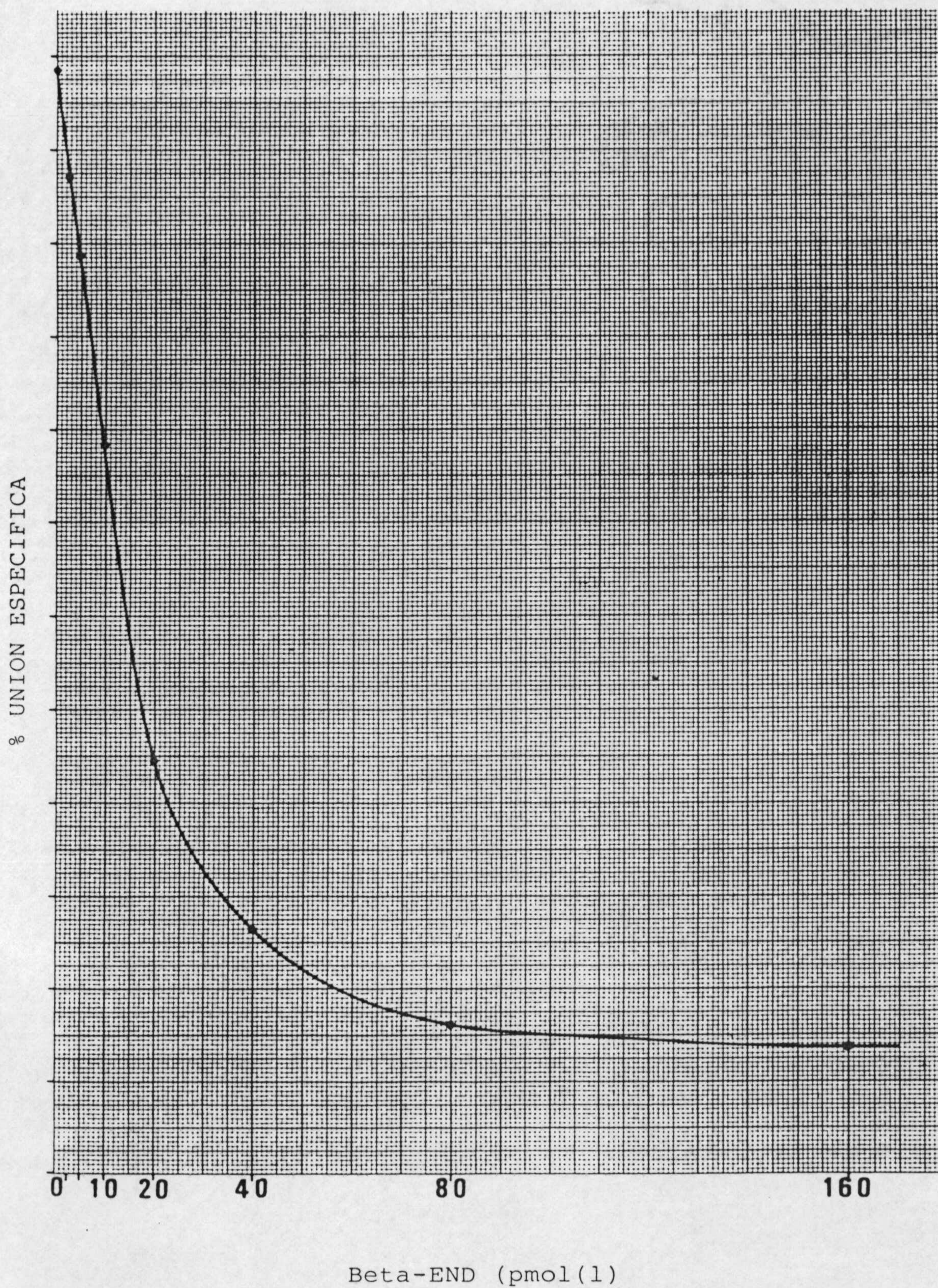
ACTIVIDAD INICIAL (CPM)	\bar{x}	σ_{n-1}	ACTIVIDAD TRAS LA EXTRACCION EN COLUM- NAS ODS-SILICA	x	σ_{n-1}
2561			1720		
2627			1692		
2660			1655		
2644			1691		
2680			1681		
2716			1707		
2687			1717		
2632			1592		
2679			1794		
2737			1736		
	2662	49		1698,5	52,7

Recuperación de la beta-END tras la extracción en columnas ODS-silica. Se emplearon las mismas muestras que en el cuadro 1. Datos expresados en CPM. La recuperación de esta etapa fué de un 63,78 %. En conjunto en estos dos pasos de extracción se recuperó un 57,32 % de la beta-END de partida.

a los tubos que contienen beta-END desecada, se agitan y se incuban a 37 °C en baño maría durante 10 minutos. Posteriormente, se agitan de nuevo homogeneizando la disolución de la que se toma una alícuota de 200 μ l. por triplicado. El RIA se realiza en tubos de plástico de 3 ml. de capacidad, siempre a 4 °C. En cada montaje de la técnica se realiza una curva patrón, igualmente por triplicado, empleando beta-END a concentraciones de 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2,5 y 0 pM, así como tres tubos para la determinación de la actividad total y otros tres para el precipitado no específico. Un ejemplo de la curva patrón puede verse en la fig. 18 . Sobre estos 200 μ l. de cada muestra se añaden 100 μ l. de Ac anti-beta-END. Se incuba a 4 °C durante 16 horas. Finalizada la incubación se añade beta-END marcada con I^{125} y se vuelve a incubar durante 16 horas. Finalizada esta incubación se añade el segundo Ac y se realiza la última incubación durante dos horas con la finalidad de separar las fases posteriores. Se centrifuga en frío (4 °C) a 2.200 g. durante 20 minutos. Se descarta el sobrenadante por aspiración y se determina la radiactividad del precipitado en un contador gamma.

2.3.9.1.5.- TRAZADO DE LA CURVA STANDARD

Para la beta-END, hemos podido comprobar que para valores comprendidos entre 0 y 40 pm./l., la linealidad de la curva patrón es total y por tanto



(Figura 18)

es posible ajustarlos a una ecuación de regresión lineal. Los valores del coeficiente de regresión son muy altos (cuadro 3), lo que indica que estos puntos se ajustan muy bien a una recta. Por estas razones se realizó el cálculo mediante un programa computarizado, consistente en:

1º.- Hallar la recta de regresión de acuerdo con los patrones.

2º.- Hallar la "x" estimada para un valor dado de "y". "y" es el porcentaje de unión específica de la muestra y la "x" calculada se corresponde con la concentración de beta-END presente en el plasma analizado.

Practicamente la totalidad de las muestras dieron valores de beta-END comprendidos entre 0 y 40 pM. Para los casos que mostraron una unión específica superior al patrón de 40 pM., el cálculo se realizó gráficamente.

2.3.9.2.- TECNICA PARA EL ANALISIS DE ACTH

Se emplearon los siguientes reactivos servidos por la casa CEA-IRE-SORIN para ACTH.

CUADRO 3

ANALISIS Nº	ECUACION REGRESION LINEAL	COEFICIENTE DE REGRESION
10	$y = 30,38 - 0,223 x$	0,986
11	$y = 37,712 - 0,248 x$	0,981
15	$y = 35,220 - 0,297 x$	0,991
16	$y = 36,282 - 0,293 x$	0,984
17	$y = 38,480 - 0,400 x$	0,992
19	$y = 33,240 - 0,361 x$	0,991
20	$y = 33,329 - 0,444 x$	0,978
21	$y = 28,926 - 0,302 x$	0,996
22	$y = 30,946 - 0,281 x$	0,975
24	$y = 31,053 - 0,293 x$	0,987

Ejemplos de las ecuaciones de las rectas de regresión y coeficientes de regresión de la curva patrón de diez análisis distintos.

- ACTH MARCADO CON I¹²⁵.

El ACTH usado para marcar es de origen porcino. Se presenta liofilizado y contiene albumina sérica humana, tampón de veronal y un inhibidor enzimático. Cada vial del kit contiene la cantidad de hormona marcada suficiente para 100 tubos, con una radiactividad aproximada de 0,6 uCi/vial.

En el momento de su uso hay que reconstituir el frasco con 10 ml. de tampón veronal y utilizarla inmediatamente, congelando el remanente a - 20 °C.

- ACTH STANDARD.

Se ha utilizado ACTH humano sintético. Se presenta liofilizado por lo que antes de su uso debe ser diluido con 0,5 ml. de agua destilada cada frasco de ACTH standard de 0 a 900 pg./ml.. El standard 0 contiene solamente plasma humano libre de ACTH. El resto de los standard (del 1 al 5) contienen plasma humano y cantidades de ACTH determinadas (25, 75, 150, 450 y 900 pg./ml.).

El remanente de cada standard ha de congelarse rápidamente a -20 °C para evitar posibles degradaciones.

- ANTISUERO ANTI-ACTH.

Es un suero obtenido mediante inducción en un conejo de un conjugado del ACTH, con albumina bovina.

Se presenta en forma liofilizada, reconstituyéndose el contenido del frasco, en el momento de su uso, con 10 ml. de tampón veronal. La solución no utilizada se congela a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Dicho antisuero tiene una capacidad de un 40 a un 60 % para fijar la ACTH.

- TAMPON Y AGENTE ESTABILIZANTE.

El tampón utilizado para reconstituir la hormona marcada, antisuero y carbón dextrano es un tampón de veronal 0,02 M y pH 8,4, al que se le añade un 0,2 % de 2-mercaptoetanol. El agente estabilizante se le añade a la solución de tampón, que se obtiene diluyéndola en 200 ml. de agua destilada. El remanente de tampón se guarda en cámara fría de 2 a 8 $^{\circ}\text{C}$.

- CARBON DEXTRANO.

Cada frasco contiene 1 gramo de carbón seco activado. En el momento de su uso se suspende el contenido del frasco en 50 ml. de tampón veronal 0,02 M, pH 8,4, pudiéndose conservar de este modo

en cámara fría de 2 a 6 °C tres días.

Aproximadamente media hora antes de utilizar dicho reactivo y durante el tiempo en que se esté usando, ha de estar en un baño de hielo y en constante agitación, en un agitador magnético.

2.3.9.2.1.- RADIOINMUNOANALISIS DE ACTH

Para su determinación se sigue la técnica de Berson y Yallow (1.968).

Reacción antígeno-anticuerpo.- El método del radioinmunoanálisis necesita la preparación de los siguientes grupos de tubos:

- 1) Actividad total (T): Conteniendo solamente la solución de ACTH marcado con I¹²⁵.
- 2) Fondo: Conteniendo hormona marcada y 0 standard.
- 3) Standard cero (C): Dicho punto cero corresponde a la máxima ligabilidad del antisuero con la hormona marcada. Está formado por hormona marcada, 0 standard y la solución de antisuero anti-ACTH.

- 4) Standard (A_1 A_7): Contiene la solución standard correspondiente, la solución de antisuero y la solución de hormona marcada.
- 5) Problemas (S_1 S_x): Conteniendo una alícuota del suero problema, la solución del anticuerpo y la solución de la hormona marcada.

Incubación.- Los tubos se incuban de 16 a 24 horas a 2-8 °C. En este tiempo se normalizan las condiciones cinéticas y aparece el equilibrio de la reacción.

Separación de la hormona libre de la unida al anticuerpo.- Al término de la incubación se añaden a todos los tubos, mediante pipeta automática, el segundo anticuerpo (complejo precipitante). Una vez realizado dicho paso, se cierran los tubos herméticamente, se agitan y se incuban 15 minutos a temperatura ambiente.

Medida de la radiactividad.- Los tubos cerrados se centrifugan 20 minutos a 2.500 rpm y a 20-25 °C. Se decantan o se aspira el sobrenadante mediante una bomba de vacío y ya están los tubos en condiciones para medir su radiactividad, que se realiza en un contador de radiación gamma, contando cada tubo 1 minuto.

Cálculo de resultados.- En todo análisis por radioinmunoanálisis hay que tener en cuenta una serie de valores críticos que enumeramos a continuación:

"T" ACTIVIDAD TOTAL.

Es la cantidad constante de hormona marcada que se añade a cada tubo y que sería igual a la suma de los valores de la hormona marcada libre y de la unida al antisuero.

"F" FONDO O BLANCO DE LA REACCION.

Es la fracción de hormona libre desechada y que contamina todos los tubos. Su valor se resta de cada tubo del análisis. En el caso de la beta-END por ser su valor despreciable no se ha determinado.

"B".

Son las cuentas por minuto correspondientes al complejo hormona marcada unida al anticuerpo, en presencia de hormona no marcada ya sea standard o contenida en los problemas. Su valor será menor cuanto mayor sea la cantidad de hormona no marcada presente en el medio de reacción.

"B₀"

Indica la cantidad de hormona marcada unida al anticuerpo en ausencia de hormona no marcada, obteniéndose a partir de las cuentas por minuto medidas para el punto cero de la curva standard.

Uno de los parámetros que tiene un mayor interés como dato de control, es la expresión $B_0/T \cdot 100$ obtenida a partir de la relación entre la cantidad de hormona marcada que se une al anticuerpo en ausencia de hormona no marcada, con la cantidad total de hormona marcada añadida a cada tubo y que se denomina Actividad Total.

Puesto que el valor de B_0 corresponde a la máxima cantidad de hormona marcada que se une al anticuerpo, arbitrariamente le atribuimos el 100% de unión y expresamos los restantes valores de B en tantos por ciento con respecto del B_0 , utilizando la expresión $B/B_0 \cdot 100$.

2.3.9.2.2.- TRAZADO DE LA CURVA STANDARD

Para representar la curva standard tomamos sobre un sistema de coordenadas los valores obtenidos para las cuentas de los puntos standard de la hormona, expresados en porcentaje de las cuentas del $B/B_0 \cdot 100$, en ordenadas y la cantidad de hormona

de cada standard (pg./ml.), en el eje de las abcisas (Fig. 19). De esta forma, una vez trazada la curva standard los valores de los problemas se obtienen por interpolación en la misma de los porcentajes obtenidos para cada tubo.

En el caso de la ACTH, la curva standard se ha linearizado según el método propuesto por Rodbard.

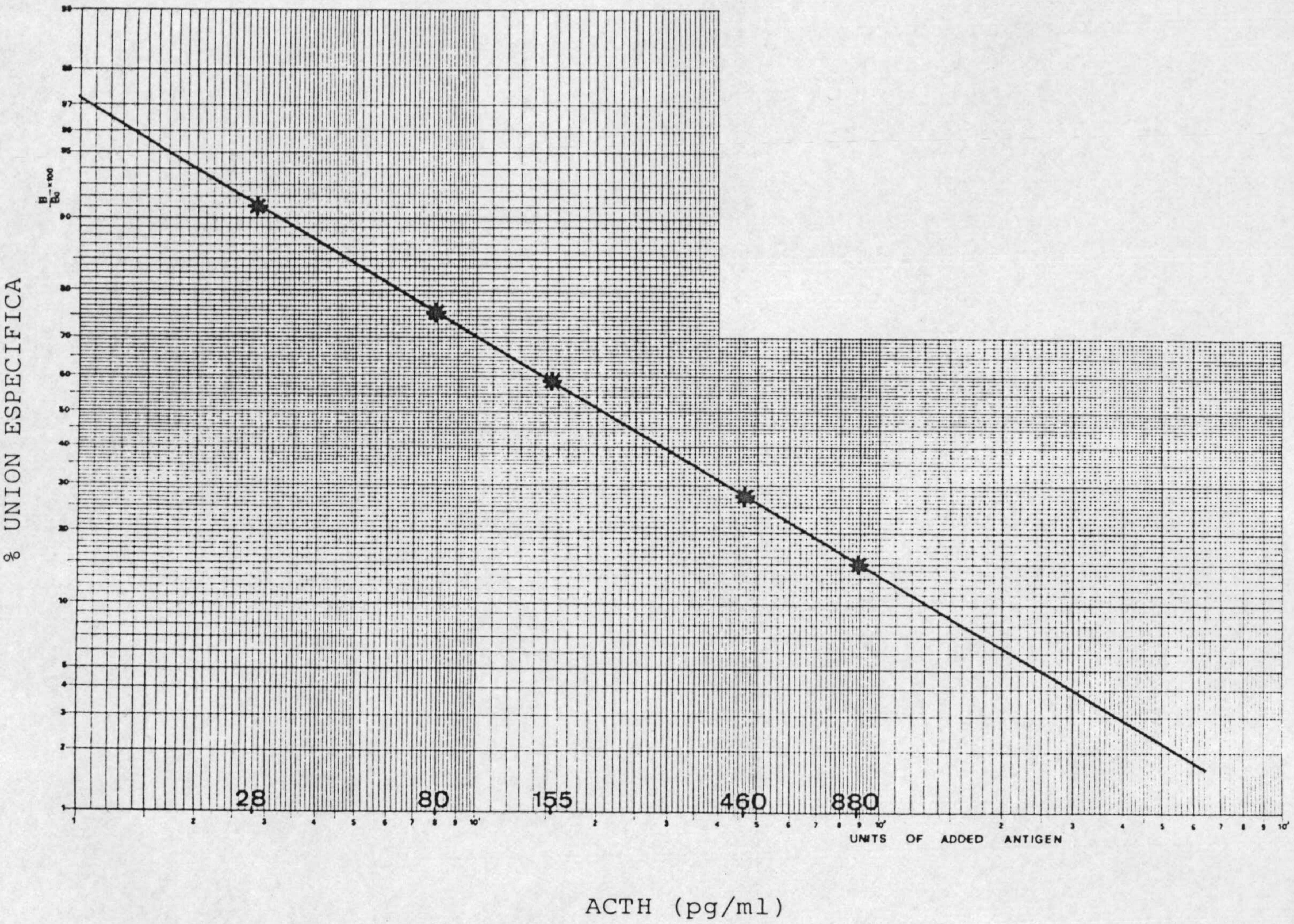
2.3.10.- CALCULO DE LA VARIACION DE LOS RESULTADOS Y DE LA RECUPERACION DE LOS METODOS ANALITICOS

Coeficiente de variación:

Una medida de la reproductibilidad de los métodos de análisis la da el coeficiente de variación $C.V. = \frac{S}{x} \cdot 100$, que indica el porcentaje de error asignable a una cierta medida. Se ha calculado midiendo repetidas veces, en un mismo experimento ó en distintos experimentos, la cantidad de hormona contenida en un mismo suero ó plasma problema y aplicando posteriormente la fórmula anterior.

	ACTH Beta-END	
Coeficiente de variación intraexperimentos	6%	5,25%
" " "		interexperimentos 12,5%

CURVA STANDARD DE ACTH



(Figura 19)

Sensibilidad:

La cantidad mínima de hormona detectable es de 10 pg./ml. para la ACTH y de 1-2 pg./ml. (0,3-0,6 fentomoles) para la beta-END.

Especificidad:

El porcentaje de reacciones cruzadas para ACTH es el siguiente:

- ACTH humano 1-39	100 %
- Beta-1-24	100 %
- Fragmento 1-16	3 %
- Fragmento 11-24	1,5 %
- Beta-END	1 %
- Gamma-LPH	0,3 %
- Beta-LPH	indetectable
- Alfa-MSH	"
- Beta-MSH	"
- Fragmento 1-10	"
- Fragmento 25-39	"

La beta-END da reacciones cruzadas con:

- Beta-END humana	100 %
- Beta-LPH	50 %
- ACTH	0,1 %
- Leu-encefalina	0,1 %
- Dinorfina	0,1 %

El hecho de que la beta-LPH produzca una mayor interferencia, ya que es relativamente abundante en sangre cuando se compara con la beta-END, ha hecho que procedamos a un primer paso de extracción de la beta-LPH anterior al RIA, por medio de Sefarosa unida a anti-beta-LPH.

2.3.11.- DETERMINACION PSICOLOGICA DE LOS ESTADOS ANIMICOS

El intentar valorar la emoción psicológica requiere no sólo la inclusión de datos psicológicos y de comportamiento sino también datos subjetivos de sentimiento, afecto y humor. El aumento de la atención a los estados y cambios de humor se refleja en la literatura a través de diversos tratamientos como son las psicoterapias breves, privación de sueño, estimulación emocional y operaciones experimentales similares. Este interés y esfuerzo ha acentuado la necesidad de un método rápido y económico de identificación y acotamiento transitorio de estados afectivos fluctuantes. A través de la medición de seis estados de humor o afectivos identificables, que son: tensión-ansiedad, depresión-abatimiento, ira-hostilidad, vigor-actividad, fatiga-inercia y confusión-perplejidad, se puede intentar lograr conocer el estado afectivo de un sujeto.

2.3.11.1.- DESCRIPCION DEL POMS

El POMS en su forma original consta de una escala clasificada con 65 adjetivos cada uno de los cuales dispone de cinco grados de libertad. El refinamiento de un total de 100 diferentes escalas por medio de repetidos análisis de factores a conducido a la actual forma del POMS.

En los tres primeros factores del POMS, cada adjetivo está clasificado en una escala de cuatro grados de intensidad. Estos grados o modificadores de intensidad han sido seleccionados de una gran serie. Estos fueron: "no del todo", "un poco", "bastante" y "extremadamente". Para cuantificar a los modificadores se le asignaron respectivamente valores de 0, 1, 2 y 3.

En el test al que los atletas fueron sometidos, respondieron a 61 adjetivos en relación con su estado anímico, con una escala de cinco grados de intensidad (o de libertad): "nada en absoluto", "un poco", "moderadamente", "bastante" y "extremadamente". A estos modificadores se les asignaron respectivamente los valores de 0, 1, 2, 3 y 4. Para calcular el resultado final del test, se sumaron los resultados, tras valorar los diferentes adjetivos.

Para mayores detalles del test, consultar Profile of Mood States de McNair y col. en 1.971.

2.4.- CLASIFICACION DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES

En las tablas que se presentan a continuación se relacionan los datos individuales de los sujetos incluidos en este estudio (atletas y controles).

Dichas tablas aparecen ordenadas por grupos: media maraton, fondo, medio fondo, velocidad y grupo control. En ellas se indican la edad, peso y longitud recorrida en la prueba específica. La prueba recorrida por los atletas fué la misma para la que se entrenaban regularmente. Los individuos del grupo control no entrenaban ni realizaban ejercicio físico regularmente. Finalmente se incluyen los tiempos invertidos en la ejecución de cada prueba por los atletas. La prueba común se corrió a un ritmo que permitiera ir al grupo de forma compacta desde su inicio hasta la llegada a la meta. Por esta razón, la prueba se realizó a una velocidad lenta, limitada por los no entrenados.

GRUPO A₁ = MEDIA MARATON

MUESTRA	NOMBRE	EDAD	AÑOS DE PRACTICA	PESO (kg)	PRUEBA ESPECIFICA	TIEMPO
E - 1	J.F.M.H.	24	12	58	22 km.	1 h. 9'
E - 2	F.F.S.	37	27	70	22 km.	1 h. 20'
E - 4	G.Q.LL.	27	4	71	22 km.	1 h. 16'
E - 5	A.C.F.	28	10	71	22 km.	1 h. 33'
E - 6	J.L.G.G.	36	3	66	22 km.	1 h. 23'
E - 7	J.R.C.	26	10	72,5	22 km.	1 h. 30'
E - 8	J.R.G.	24	3	70	22 km.	1 h. 16'
E - 9	M.L.M.	22	1	60	22 km.	1 h. 10'
E -10	R.L.R.	32	2	75	22 km.	1 h. 25'

GRUPO A₂ = FONDO

MUESTRA	NOMBRE	EDAD	AÑOS DE PRACTICA	PESO (kg)	PRUEBA ESPECIFICA	TIEMPO
E -11	J.S.F.	20	3	57	5.000 m.	15'40''77/10
E -12	E.U.R.	27	5	67	5.000 m.	16'24''49/10
E -13	J.H.J.	18	2	50	5.000 m.	16'08''45/10
E -14	F.M.R.	28	7	68	5.000 m.	15'12''45/10
E -15	N.T.E.	19	3	57	5.000 m.	17'02''90/10
E -16	F.S.V.	23	7	64	3.000 m. 4 obstaculos	8' 41''

GRUPO A₃ = MEDIO FONDO

MUESTRA	NOMBRE	EDAD	AÑOS DE PRACTICA	PESO (kg)	PRUEBA ESPECIFICA	TIEMPO
E -17	J.R.A.	23	4	63	1.500 m.	4'07''3/10
E -18	C.R.F.	21	2	63	1.500 m.	4'13''9/10
E -19	F.S.V.	24	6	65	1.500 m.	3'55''3/10
E -20	V.M.O.	18	1	60	800 m.	1'58''4/10
E -21	T.M.R.	17	2	68	800 m.	2'4''
E -22	A.J.P.R.	18	1	60	800 m.	2'4''

GRUPO A₄ = VELOCIDAD

MUESTRA	NOMBRE	EDAD	AÑOS DE PRACTICA	PESO (kg)	PRUEBA ESPECIFICA	TIEMPO
E -23	G.V.E.	20	2	61	100 m.	11''5/10
E -24	I.R.M.	19	2	64	200 m.	24''4/10
E -25	J.G.C.	21	1	63	100 m.	11''4/10
E -26	J.V.F.	16	1	68	200 m.	24''4/10
E -27	J.A.N.	23	5	70	200 m.	25''4/10
E -28	J.J.D.	16	2	70	200 m.	24''2/10
E -29	S.A.M.	24	4	71	200 m.	24''1/10
E -30	J.E.S.	17	2	66	200 m.	24''2/10

GRUPO C = CONTROL

MUESTRA	NOMBRE	EDAD	AÑOS DE PRACTICA	PESO (kg)	PRUEBA COMUN	TIEMPO
E -31	J.J.T.A.	21	NINGUNO	75	3.000 m.	16'7''7/10
E -32	J.L.T.C.	22	"	65	3.000 m.	16'7''7/10
E -33	A.M.B.	18	"	64	3.000 m.	16'7''7/10
E -34	J.M.D.L.C.	18	"	68	3.000 m.	16'7''7/10
E -35	J.J.G.G.	22	"	80	3.000 m.	16'7''7/10
E -36	C.O.G.	22	"	67	3.000 m.	16'7''7/10

2.5.- METODOS ESTADISTICOS

Se han utilizado los siguientes test:

- 1.- Test de Student para comparación de dos medias con muestras independientes.
- 2.- ANOVA III con dos factores fijos y uno aleatorio, este último anidado.
- 3.- ANOVA I para comparación de varias medias con muestras independientes junto con el test de Dunnett para todas las comparaciones por parejas.
- 4.- Regresión lineal simple.



3.- RESULTADOS

Los datos obtenidos en la presente investigación han sido agrupados en cuatro apartados.

El primero de ellos, ha sido denominado "Tablas y Gráficas de los resultados bioquímicos - obtenidos en atletas antes y después de las pruebas físicas". Los resultados se presentan según la siguiente secuencia:

- a) Tablas de datos individuales.
- b) Representación de las medias y error standard de la media de cada uno de los grupos en las dos situaciones estudiadas: basal y tras el ejercicio físico (propio de cada grupo) comparando estas dos situaciones entre sí.

El segundo apartado, denominado "Prueba común", incluye un grupo experimental formado por atletas provenientes de los grupos experimentales A_1 y A_2 así como individuos no entrenados. Los datos se presentan según el siguiente orden:

- a) Tablas de datos individuales.
- b) Representación de las medias y SEM de cada uno de los grupos (experimental y control) en las dos situaciones estudiadas: basal y tras el ejerci-

cio físico (común a todos ellos) comparando estas dos situaciones entre sí.

- c) Comparación entre los valores basales obtenidos en individuos no entrenados y atletas. Igualmente se han comparado los valores de beta-END y ACTH en estos mismos grupos de individuos tras el ejercicio físico.

El tercer apartado, denominado "Abstinencia al ejercicio físico", recoge los datos obtenidos en sangre de atletas de los grupos A_1 y A_2 en la siguiente secuencia:

- a) Tablas de datos individuales.
- b) Representación de las medias y SEM de cada uno de los tiempos (0, 3, 6 y 9 días) así como la comparación inter-tiempos.
- c) Representación de los valores obtenidos en los test psicológicos.

El cuarto y último apartado, incluye las dos rectas de regresión extraídas de todo el estudio, siendo la primera la obtenida con los valores basales y la segunda con los valores tras el ejercicio físico, así como una comparación entre ambas.

3.1.- TABLAS Y GRAFICAS DE LOS RESULTADOS BIOQUIMICOS OBTENIDOS EN ATLETAS ANTES Y DESPUES DE LAS PRUEBAS FISICAS.

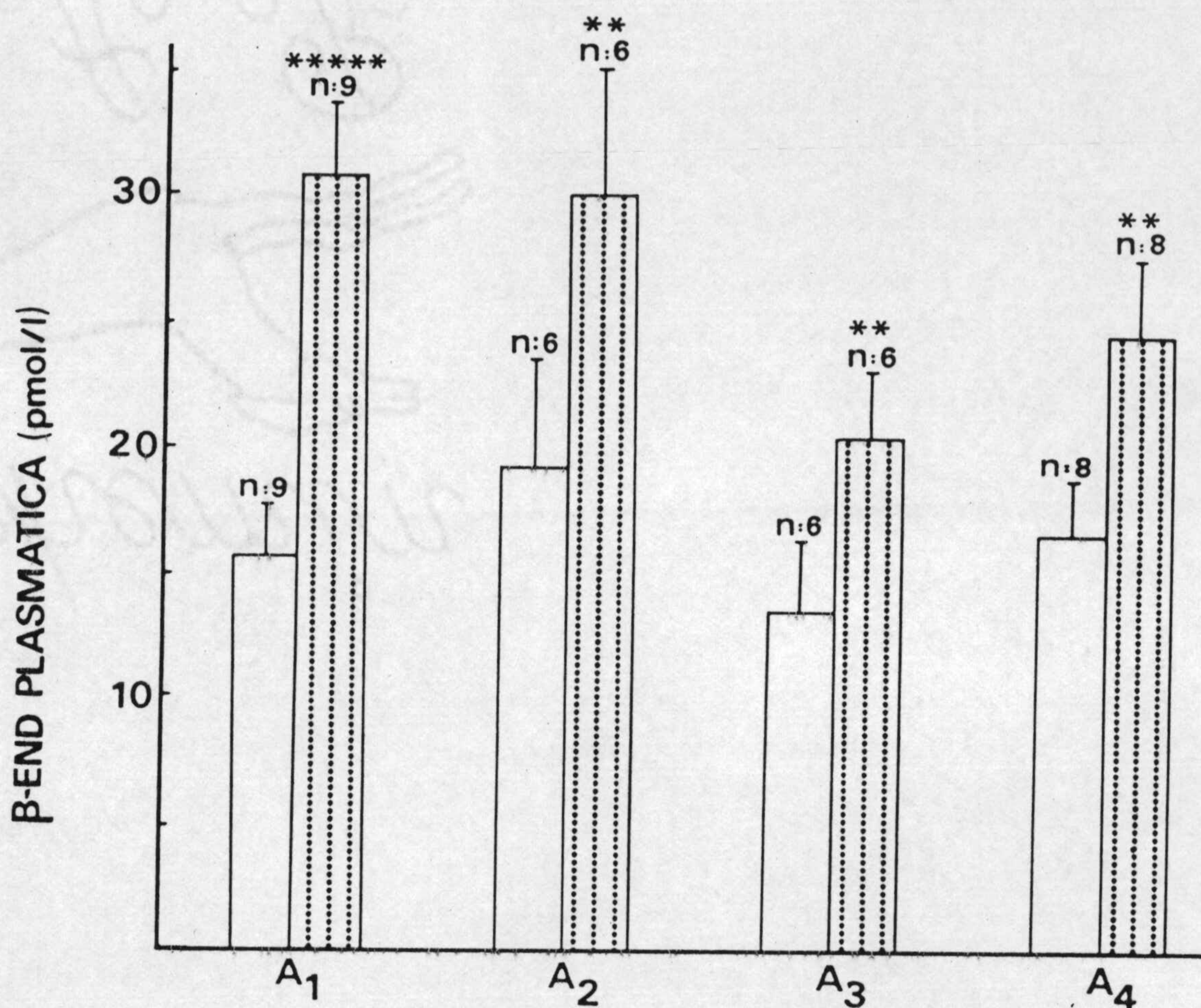
TABLA 1.- BETA-END PLASMATICA (pmol/l)

MEDIA MARATON			FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 1	14,127	42,967	E - 11	36,073	41,278	E - 17	9,722	12,044	E - 23	25,391	25,564
E - 2	13	19,712	E - 12	24,940	40,548	E - 18	12,14	18,374	E - 24	13,148	35,623
E - 4	20,5	35,780	E - 13	11,44	15,001	E - 19	9,86	24,635	E - 25	12,197	13,692
E - 5	23,8	35,002	E - 14	21,194	35,380	E - 20	27,611	29,553	E - 26	24,88	28,26
E - 6	22	38,818	E - 15	11,318	13,33	E - 21	10,514	22,647	E - 27	23,08	27,51
E - 7	12	17,394	E - 16	9,860	33,49	E - 22	11,505	15,188	E - 28	7,729	13,206
E - 8	6,306	32,928							E - 29	12,764	18,619
E - 9	10,507	28,223							E - 30	15,898	33,528
E - 10	19	25,229									

\bar{x}	15,6933	30,672		19,1375	29,837		13,558	20,406		16,885	24,5002
SEM	1,9646	2,885		4,207	5,106		2,836	2,632		2,361	3,013
P <	0,001			0,05			0,05			0,05	

Niveles plasmáticos de beta-END antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: media maratón (22 km.), fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en pmol/l. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 1



Representación gráfica de los valores plasmáticos de beta-END antes y después de las pruebas físicas. En abcisas se indican los distintos grupos de atletas: media maraton (A₁), fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales, barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. **P < 0,05, *****p < 0,001.

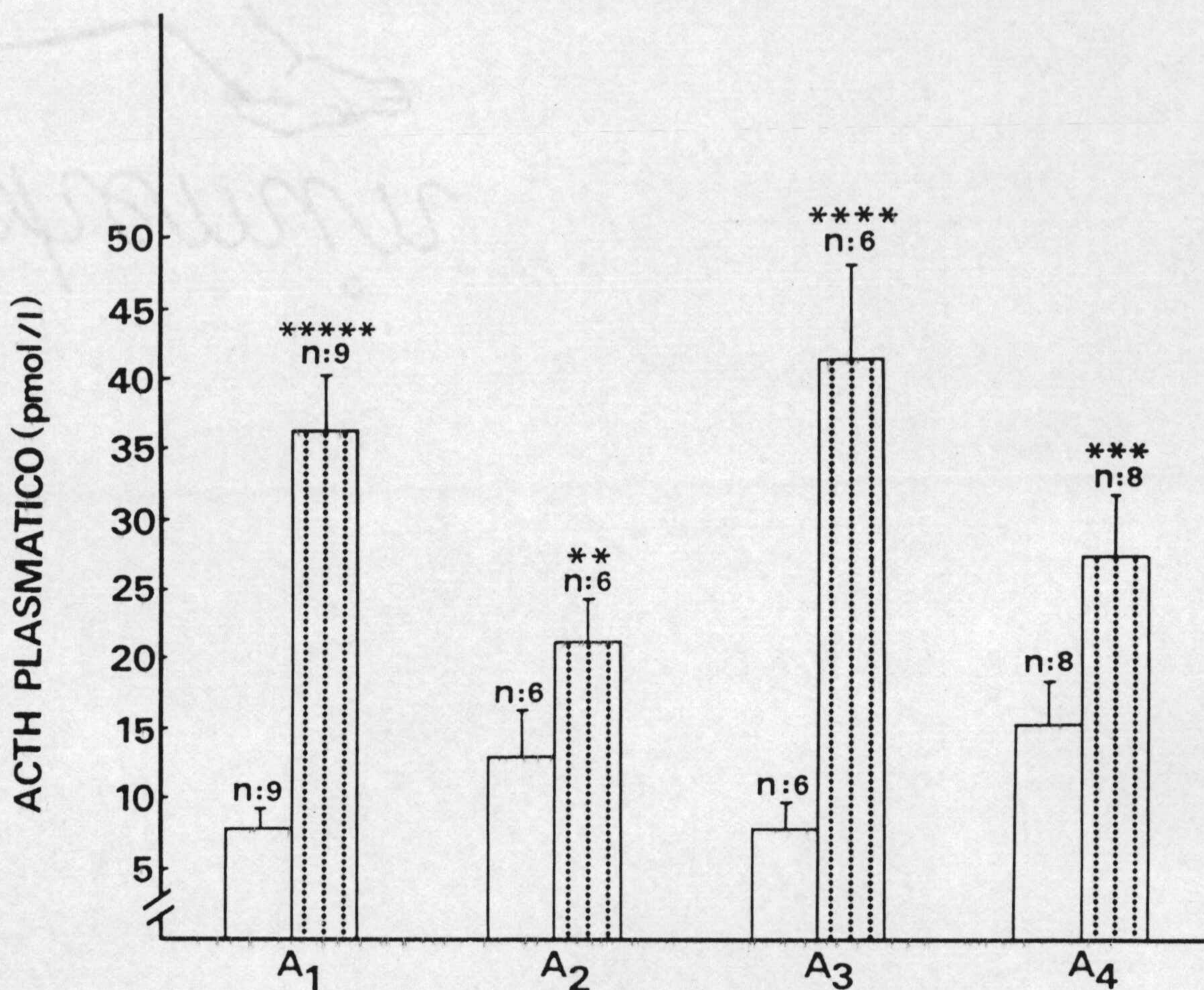
TABLA 2.- ACTH PLASMÁTICO (pmol/l)

MEDIA MARATON			FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 1	3,74	30,8	E - 11	20,68	22	E - 17	14,96	44	E - 23	9,02	9,02
E - 2	7,7	23,1	E - 12	23,1	27,5	E - 18	10,34	39,6	E - 24	11,88	18,92
E - 4	14,08	41,8	E - 13	13,64	21,12	E - 19	6,6	72,6	E - 25	8,58	25,3
E - 5	10,34	46,2	E - 14	10,34	23,1	E - 20	8,36	24,2	E - 26	33	36,3
E - 6	13,2	38,5	E - 15	3,96	6,6	E - 21	5,06	34,1	E - 27	19,8	26,4
E - 7	4,84	21,12	E - 16	6,6	27,5	E - 22	1,98	34,1	E - 28	7,48	16,72
E - 8	7,26	38,5							E - 29	13,2	44
E - 9	4,62	28,38							E - 30	18,48	41,8
E - 10	9,46	57,2									

\bar{x}	8,36	36,177		13,053	21,303		7,883	41,433		15,18	27,307
SEM	1,2396	3,859		3,1152	3,145		1,833	6,796		3,004	4,414
P <	0,001			0,05			0,01			0,02	

Niveles plasmáticos de ACTH antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: media maratón (22 km.), fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en pmol/l. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 2



Representación gráfica de los valores plasmáticos de ACTH antes y después de las pruebas físicas. En abcisas se indican los distintos grupos de atletas: media maratón (A₁), fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. **P < 0,05, ***P < 0,02, ****P < 0,01, *****P < 0,001.

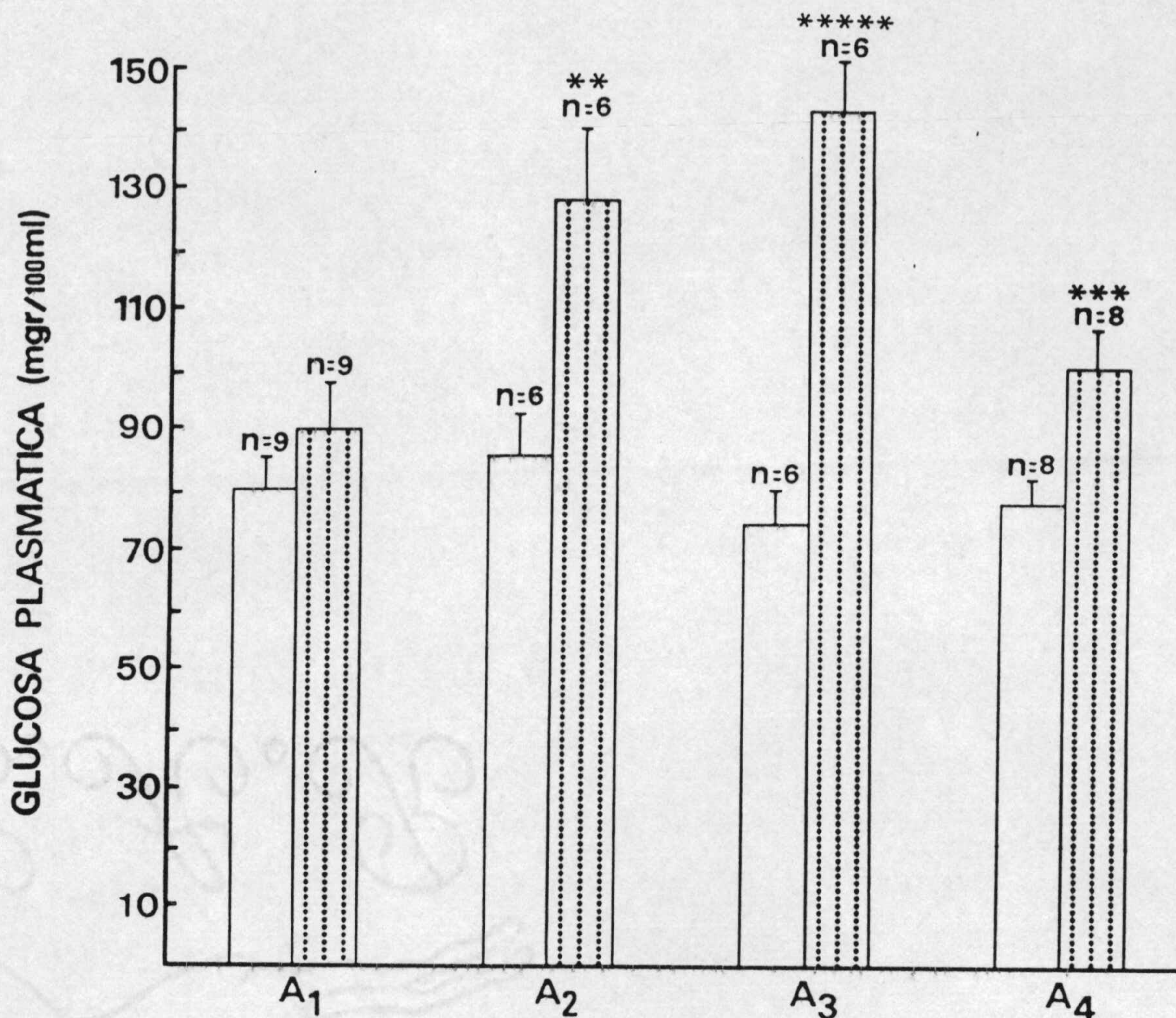
TABLA 3.- GLUCOSA PLASMÁTICA (mgr/100 ml.)

MEDIA MARATON			FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 1	83,46	116,53	E - 11	88,88	129	E - 17	95,72	179,48	E - 23	99,4	108,5
E - 2	64,56	62,99	E - 12	83,76	106,83	E - 18	74,8	160,68	E - 24	82	71,7
E - 4	71,65	85,03	E - 13	120	129	E - 19	72,64	135	E - 25	88	121
E - 5	85,03	90,55	E - 14	76	170	E - 20	54,7	128,2	E - 26	72,6	119,6
E - 6	104,72	88,18	E - 15	80,34	88,88	E - 21	71,79	128,2	E - 27	69,2	84,6
E - 7	105,5	135,43	E - 16	72,6	150	E - 22	79,48	131,6	E - 28	67,2	103,2
E - 8	69,29	67,71							E - 29	72,8	88,8
E - 9	62,99	96,06							E - 30	70,4	116
E - 10	71,65	70,86									

\bar{x}	79,872	90,371		86,93	128,951		74,855	143,86		77,7	101,675
SEM	5,375	7,838		7,013	11,864		5,407	8,700		3,967	6,4152
P <	N.S.			0,05			0,001			0,02	

Niveles plasmáticos de glucosa antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: media maratón (22 km.), fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en mgr/100 ml. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 3



Representación gráfica de los valores plasmáticos de glucosa antes y después de las pruebas físicas. En abcisas se indican los distintos grupos de atletas: media maraton (A₁), fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. **P < 0,05, ***P < 0,02, ****P < 0,001.

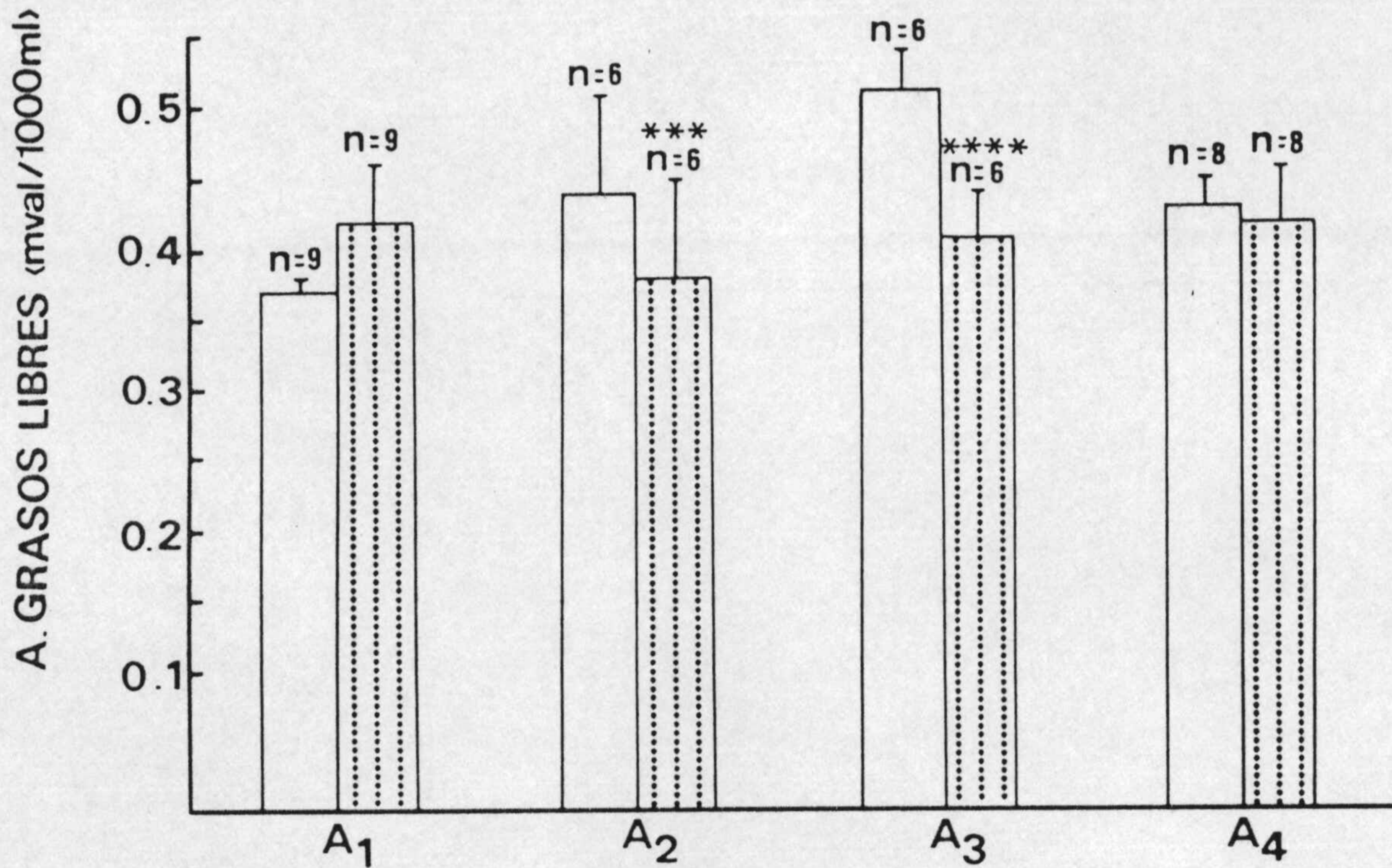
Tabla 4.- ACIDOS GRASOS LIBRES (mval/1.000 ml.)

MEDIA MARATON			FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 1	0,345	0,413	E - 11	0,37	0,29	E - 17	0,53	0,36	E - 23	0,40	0,37
E - 2	0,395	0,428	E - 12	0,82	0,76	E - 18	0,51	0,52	E - 24	0,355	0,353
E - 4	0,393	0,323	E - 13	0,45	0,33	E - 19	0,41	0,29	E - 25	0,58	0,70
E - 5	0,325	0,715	E - 14	0,34	0,31	E - 20	0,48	0,37	E - 26	0,483	0,436
E - 6	0,343	0,412	E - 15	0,28	0,28	E - 21	0,598	0,437	E - 27	0,45	0,383
E - 7	0,391	0,428	E - 16	0,41	0,33	E - 22	0,56	0,471	E - 28	0,352	0,35
E - 8	0,343	0,323							E - 29	0,48	0,421
E - 9	0,42	0,3							E - 30	0,354	0,351
E - 10	0,333	0,496									

\bar{x}	0,3653	0,426		0,445	0,383		0,514	0,408		0,431	0,4205
SEM	0,011	0,041		0,078	0,075		0,026	0,034		0,028	0,041
P <	N.S.			0,02			0,01			N.S.	

Niveles plasmáticos de ácidos grasos libres antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: media maratón (22 km.), fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en mval/1000 ml. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante al comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 4



Representación gráfica de los valores plasmáticos de los ácidos grasos libres antes y después de las pruebas físicas. En abcisas se indican los distintos grupos de atletas: media maraton (A₁), fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. ***p < 0,02, ****p < 0,01.

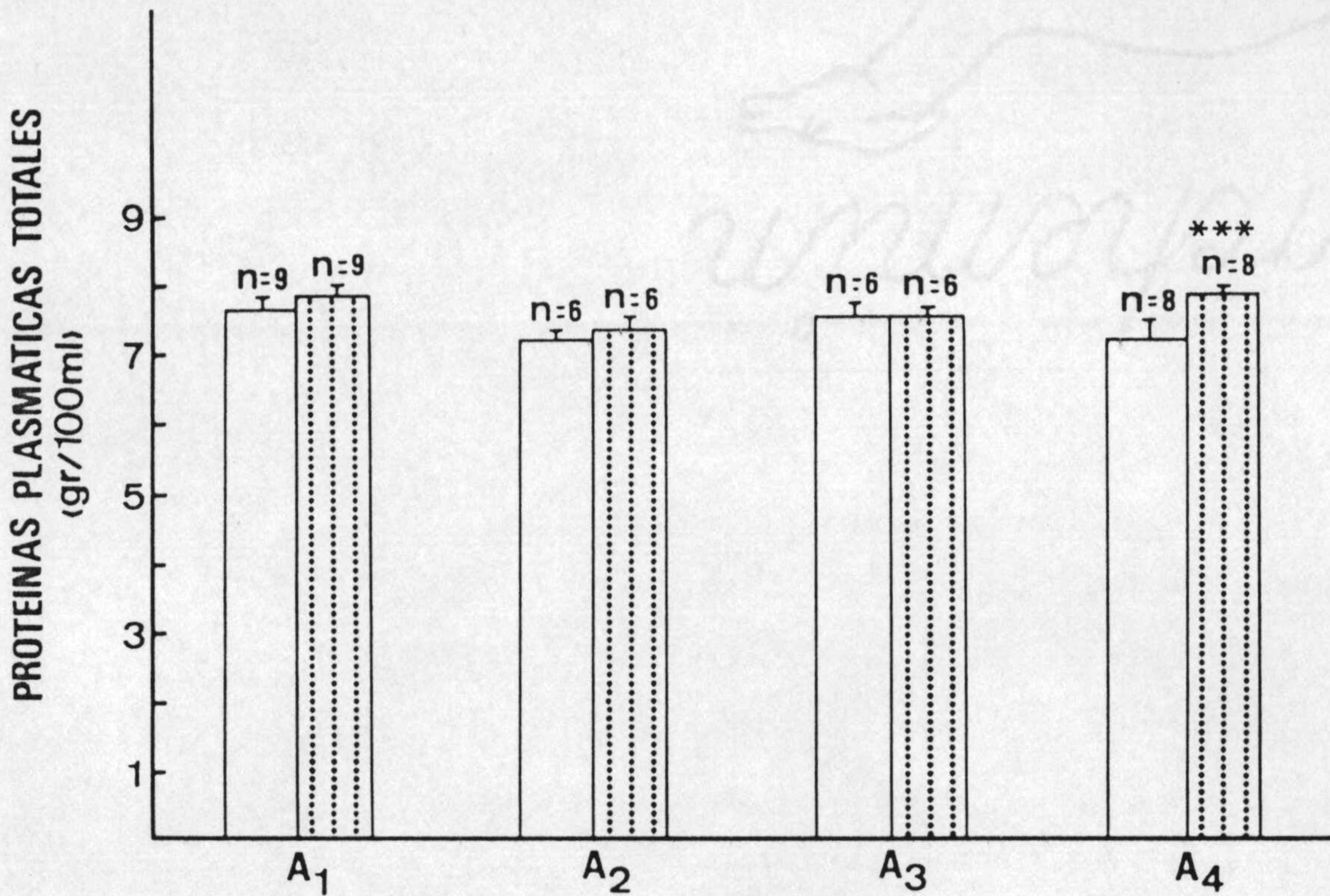
TABLA 5.- PROTEINAS PLASMATICAS TOTALES (gr/100 ml.)

MEDIA MARATON			FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 1	6,6	7,5	E - 11	6,9	7,1	E - 17	7,9	8,1	E - 23	7,6	8,2
E - 2	8	7,5	E - 12	7,3	7,3	E - 18	6,8	7,5	E - 24	6	7,7
E - 4	7,9	8	E - 13	6,8	7,1	E - 19	7,3	7,3	E - 25	6,8	7,7
E - 5	8,2	9,2	E - 14	7	7,4	E - 20	8,1	7,8	E - 26	8,7	8,6
E - 6	8,2	7,9	E - 15	8,2	8,3	E - 21	8,2	7,7	E - 27	7,5	8
E - 7	7,6	7,9	E - 16	7,3	7,1	E - 22	7,2	7,6	E - 28	6,3	7,6
E - 8	8,1	7,5							E - 29	7,5	7,5
E - 9	7,4	7,9							E - 30	7,6	8,1
E - 10	8	8,2									

\bar{x}	7,777	7,955		7,25	7,383		7,583	7,666		7,25	7,925
SEM	0,172	0,176		0,207	0,190		0,230	0,111		0,302	0,1305
P <	N.S.			N.S.			N.S.			0,02	

Niveles plasmáticos de proteínas totales antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: media maratón (22 km.), fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en gr/100 ml. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 5



Representación gráfica de los valores de las proteínas plasmáticas totales antes y después de las pruebas físicas. En abcisas se indican los distintos grupos de atletas: media maraton (A₁), fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. ***P < 0,02.

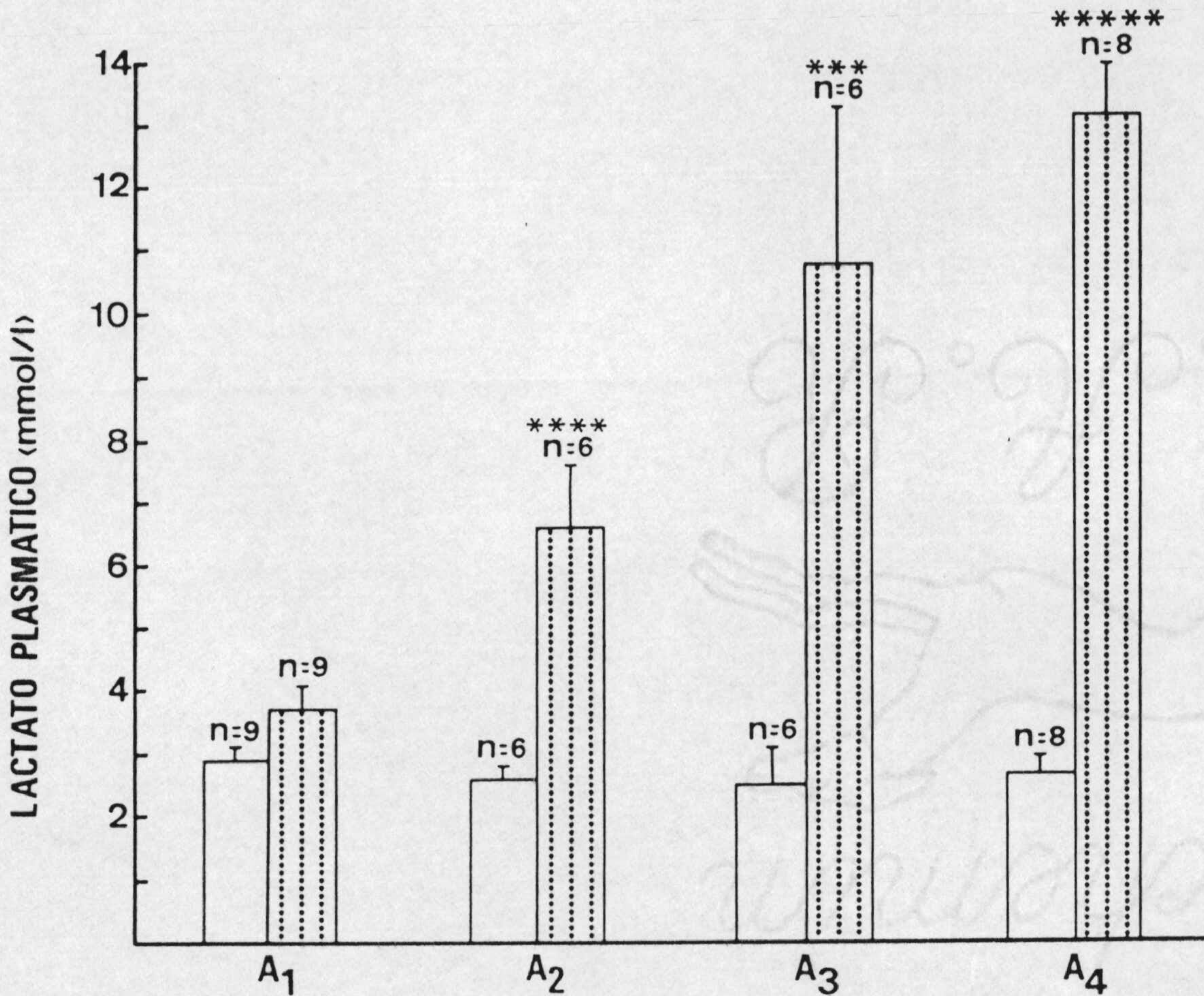
TABLA 6.- LACTATO PLASMATICO (mmol/l)

MEDIA MARATON			FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 1	3,56	5,17	E - 11	2,43	5,29	E - 17	1,33	7,29	E - 23	3,74	10,49
E - 2	2,6	3,09	E - 12	1,92	5,29	E - 18	4,14	10,06	E - 24	1,85	11,38
E - 4	3,48	3,79	E - 13	2,43	4,95	E - 19	2,9	16,5	E - 25	1,36	9,8
E - 5	2,38	5,9	E - 14	2,41	7,35	E - 20	0,22	0,36	E - 26	3,28	14,8
E - 6	3,18	2,58	E - 15	3,42	5,46	E - 21	3,12	15,7	E - 27	3,30	13,23
E - 7	2,64	2,53	E - 16	2,9	11,35	E - 22	3,73	15	E - 28	2,5	15,42
E - 8	3,50	2,38							E - 29	3,12	15,28
E - 9	3,30	3,67							E - 30	2,63	15,3
E - 10	1,6	4,45									

\bar{x}	2,915	3,728		2,585	6,615		2,573	10,818		2,722	13,212
SEM	0,220	0,413		0,209	1,009		0,613	2,556		0,283	0,828
P <	N.S.			0,01			0,02			0,001	

Niveles plasmáticos de lactato antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: media maratón (22 km.), fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en mmol/l. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 6



Representación gráfica de los valores plasmáticos de lactato antes y después de las pruebas físicas. En abcisas se indican los distintos grupos de atletas: media maraton (A₁), fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. ***p < 0,02, ****p < 0,01, *****p < 0,001.

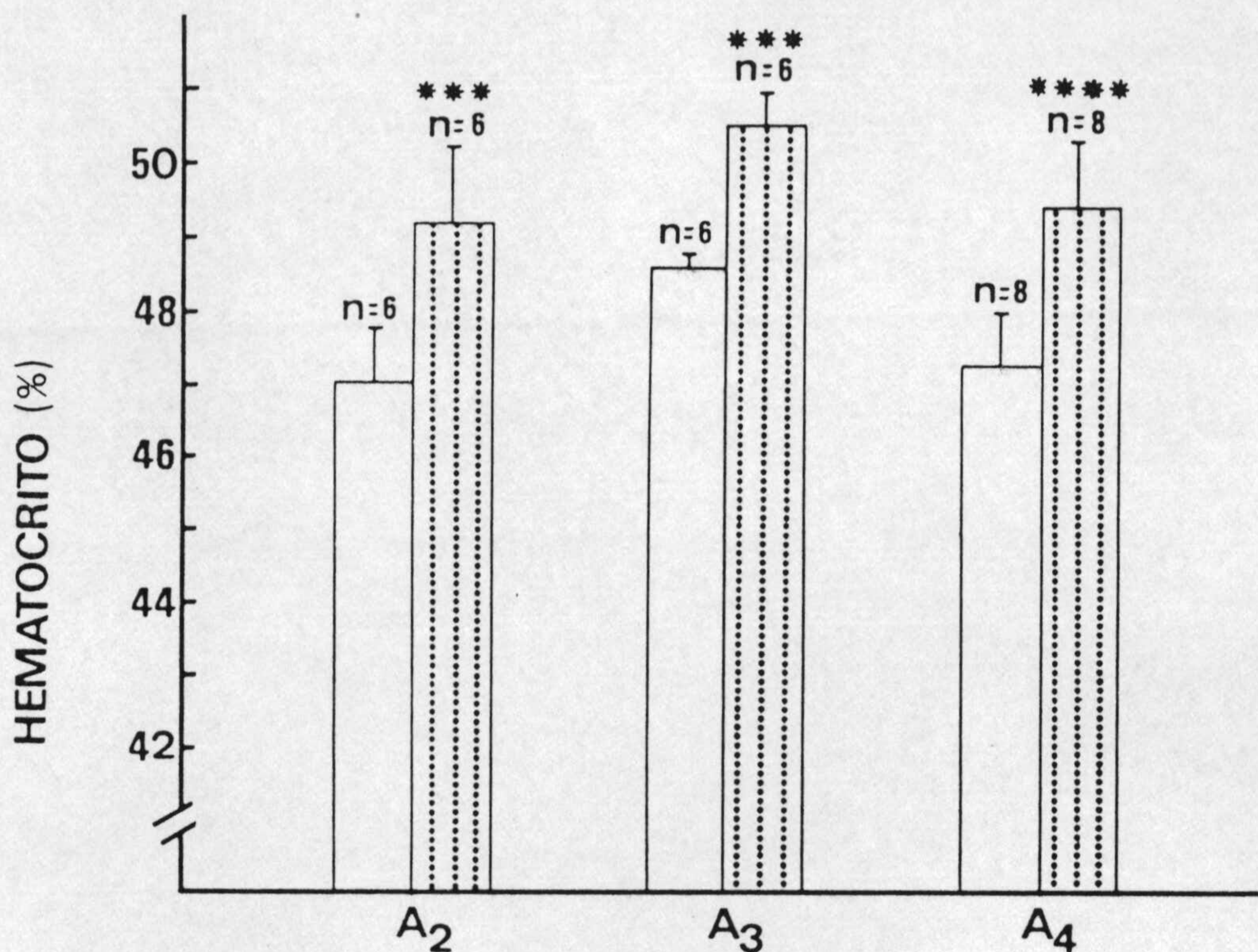
TABLA 7.- VALOR HEMATOCRITO (%)

FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 11	45	49	E - 17	48	51	E - 23	44	48
E - 12	47	48	E - 18	49	49	E - 24	49	53
E - 13	45	47	E - 19	49	52	E - 25	50	52
E - 14	49	50	E - 20	49	51	E - 26	50	52
E - 15	46	47	E - 21	48	49	E - 27	46	48
E - 16	50	54	E - 22	49	51	E - 28	46	47
						E - 29	46	46
						E - 30	47	49

\bar{x}	47	49.166		48.666	50.5		47.25	49.375
SEM	0.856	1.077		0.210	0.5		0.773	0.924
P <	0.02			0.02			0.01	

Valores de hematocrito antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en %. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 7



Representación gráfica de los valores de hematocrito antes y después de las pruebas físicas. En abscisas se indican los distintos grupos de atletas: fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. ***p < 0,02, ****p < 0,01.

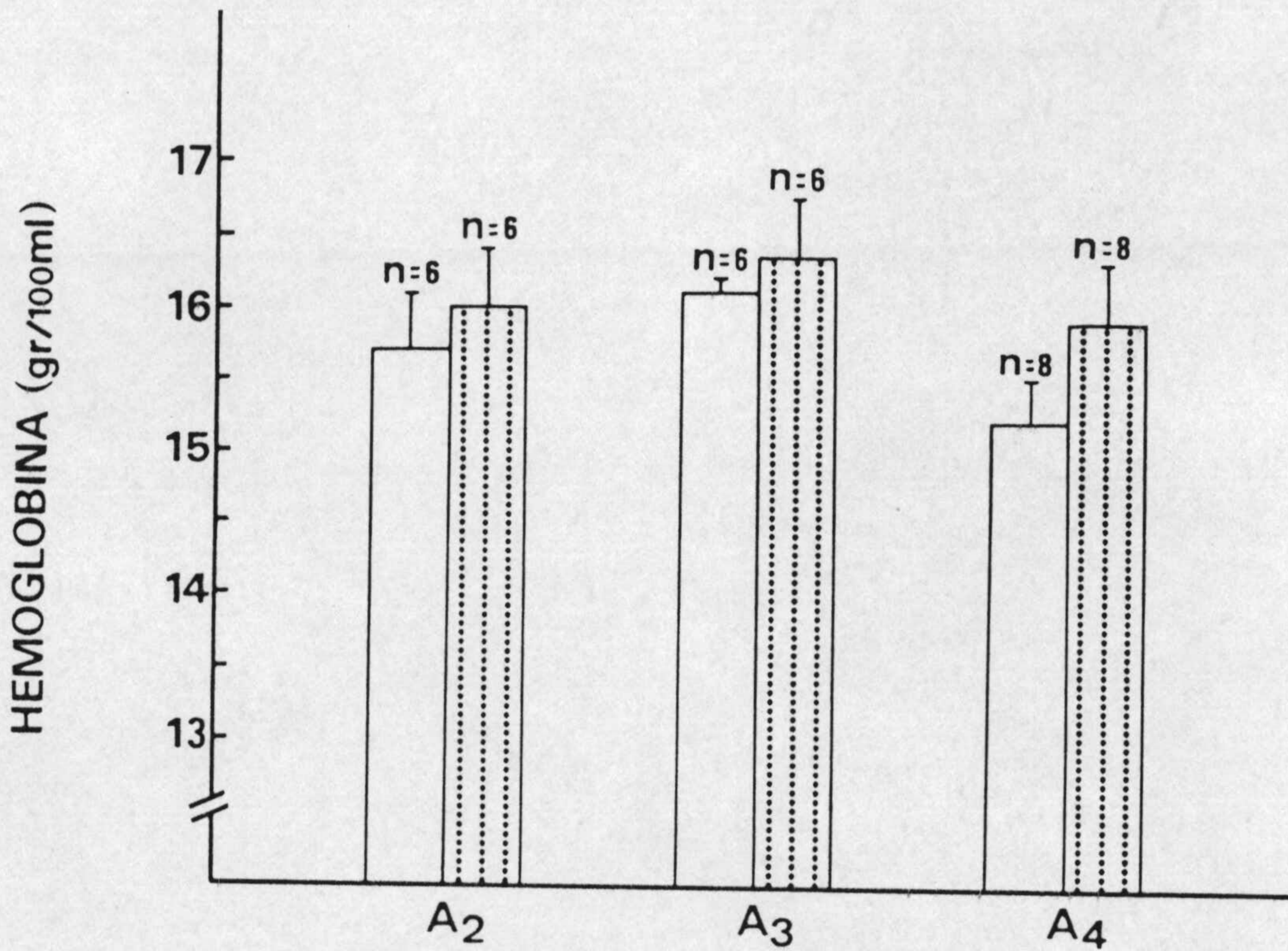
TABLA 8.- HEMOGLOBINA (gr/100 ml.)

FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 11	14,3	15	E - 17	16	17,1	E - 23	15	17,6
E - 12	15,1	14,7	E - 18	16,4	16,1	E - 24	16	17,5
E - 13	15,5	16,8	E - 19	16,2	17,1	E - 25	17,1	16,7
E - 14	16,6	16,1	E - 20	16,2	16,9	E - 26	15,4	15,7
E - 15	16	16,6	E - 21	16,3	16	E - 27	14,2	14,7
E - 16	17,1	16,8	E - 22	15,6	14,9	E - 28	14,7	15,1
						E - 29	14,8	13,8
						E - 30	15,1	16,2

x	15,766	16		16,116	16,35		15,287	15,912
SEM	0,416	0,380		0,116	0,351		0,318	0,476
P	N.S.			N.S.			N.S.	

Niveles de hemoglobina en sangre antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en gr/100 ml.. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 8



Representación gráfica de los valores en sangre de hemoglobina antes y después de las pruebas físicas. En abcisas se indican los distintos grupos de atletas: fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media.

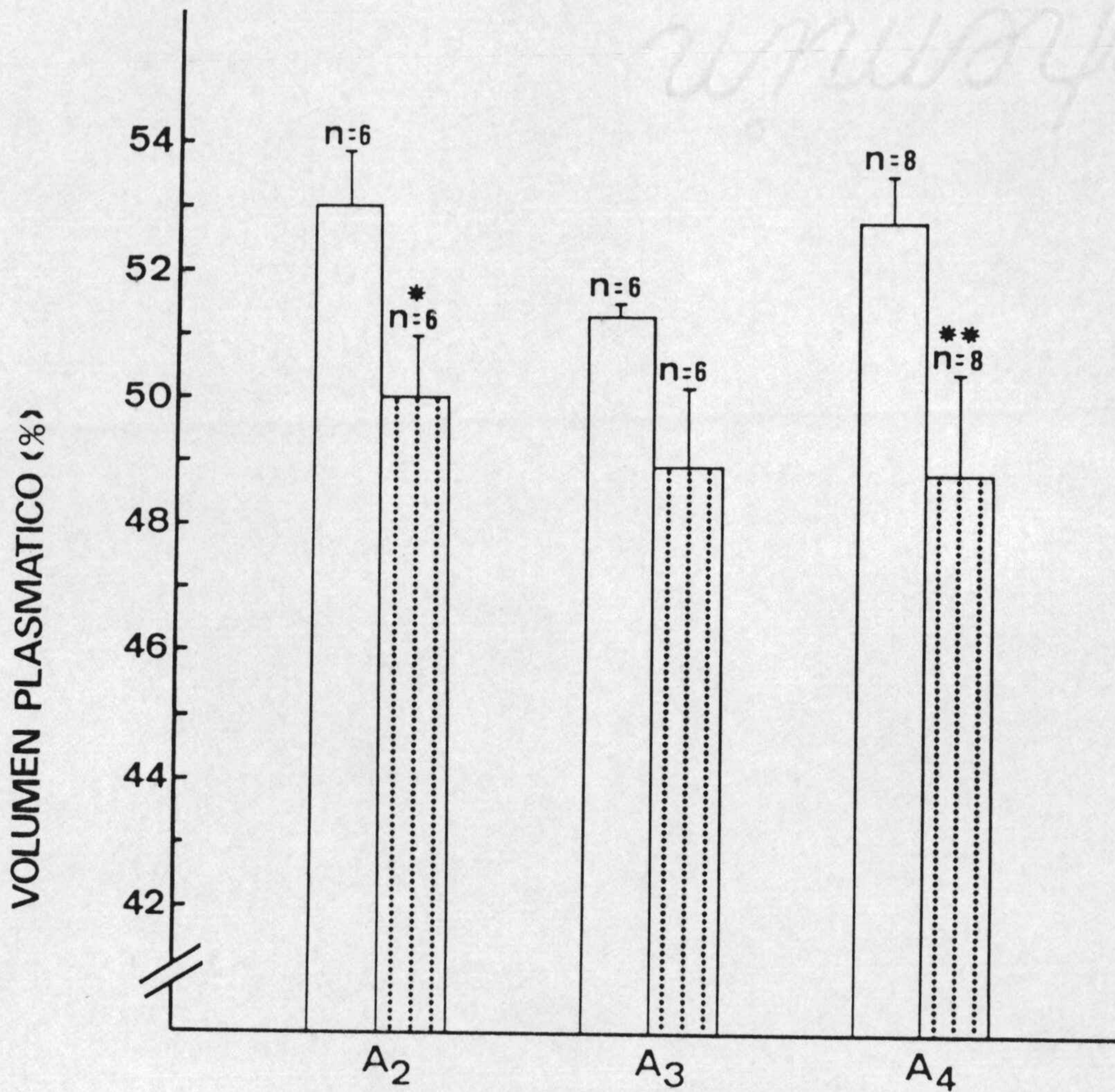
TABLA 9.- VOLUMEN PLASMATICO (%)

FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 11	55	48,62	E - 17	52	45,84	E - 23	56	44,31
E - 12	53	53,41	E - 18	51	51,95	E - 24	51	42,97
E - 13	55	48,89	E - 19	51	45,47	E - 25	50	49,14
E - 14	51	51,55	E - 20	51	46,97	E - 26	50	47,08
E - 15	54	51,08	E - 21	52	51,95	E - 27	54	50,23
E - 16	50	46,82	E - 22	51	51,30	E - 28	54	51,59
						E - 29	54	57,91
						E - 30	53	47,53

x	53	50,061		51,333	48,913		52,75	48,845
SEM	0,856	0,973		0,210	1,280		0,773	1,645
P <	0,1			N.S.			0,05	

Niveles de volumen plasmático antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en %. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 9



Representación gráfica del volumen plasmático antes y después de las pruebas físicas. En abscisas se indican los distintos grupos de atletas: fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. *P > 0,1, **P > 0,05.

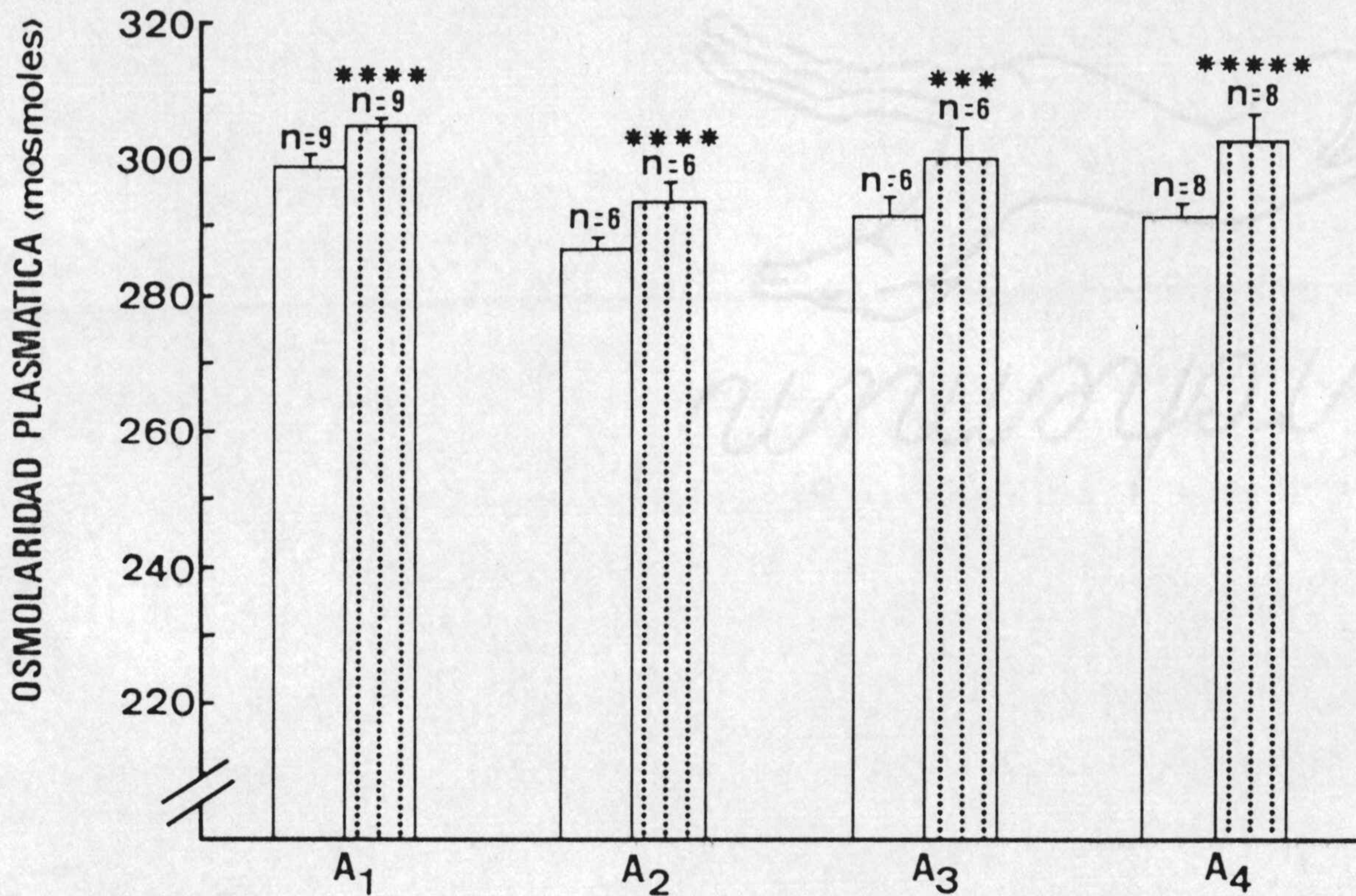
TABLA 10.- OSMOLARIDAD (mosmoles)

MEDIA MARATON			FONDO			MEDIO FONDO			VELOCIDAD		
MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS	MUESTRA	B	TRAS
E - 1	298,5	305	E - 11	284	286	E - 17	287	293	E - 23	286	289
E - 2	294	299	E - 12	287	292	E - 18	287	295	E - 24	286	291
E - 4	294	304	E - 13	288	295	E - 19	295	298	E - 25	284	296
E - 5	296	307	E - 14	285	295	E - 20	287	293	E - 26	299	317
E - 6	301,5	308	E - 15	285	290	E - 21	292,5	312	E - 27	298	316
E - 7	303	308	E - 16	295	308	E - 22	301,5	313	E - 28	296	306
E - 8	312	308,5							E - 29	295	309
E - 9	296	306							E - 30	293,5	302
E - 10	300	305,5									

\bar{x}	299,444	305,66		287,333	294,33		291,66	300,66		292,187	303,25
SEM	1,895	0,975		1,646	3,062		2,407	3,818		2,104	3,778
P <	0,01			0,01			0,02			0,001	

Osmolaridad antes (B) y después (TRAS) de realizar las pruebas específicas: media maratón (22 km.), fondo (5.000 m.), medio fondo (1.500 y 800 m.) y velocidad (400, 200 y 100 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en mosmoles. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultantes de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba.

GRAFICA 10



Representación gráfica de los valores plasmáticos de osmolaridad antes y después de las pruebas físicas. En abcisas se indican los distintos grupos de atletas: media maraton (A₁), fondo (A₂), medio fondo (A₃) y velocidad (A₄). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. ***p < 0,02, ****p < 0,01, *****p < 0,001.

3.2.- TABLAS Y GRAFICAS DE LOS RESULTADOS BIOQUIMICOS OBTENIDOS EN ATLETAS Y CONTROLES ANTES Y DESPUES DE LA PRUEBA COMUN.

TABLA 11.- BETA-ENDORFINA PLASMÁTICA (pmol/l)

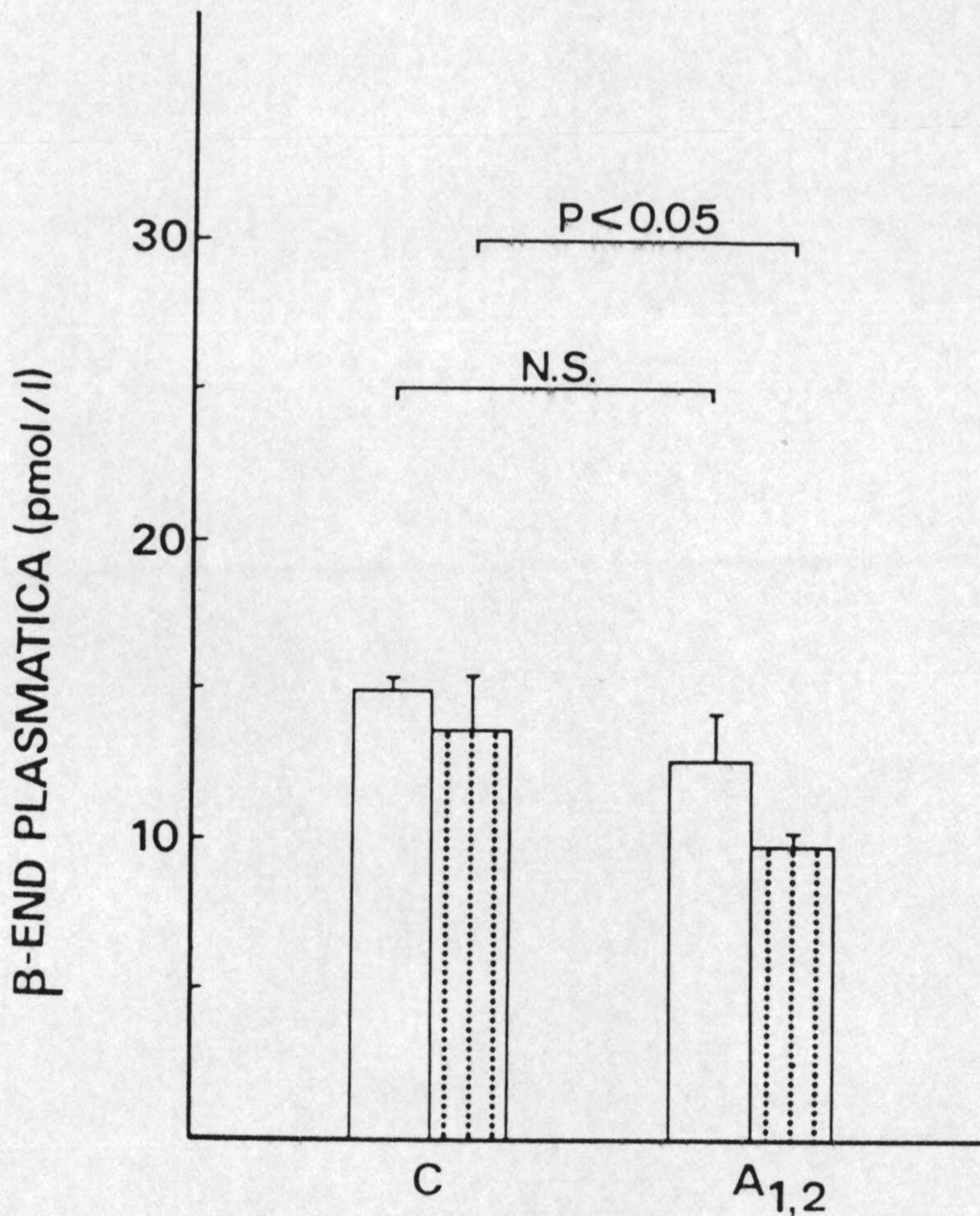
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	14,127	9,278	E - 31	13,635	12,138
E - 5	17,725	10,35	E - 32	16,272	20,876
E - 8	6,306	7,334	E - 33	16,027	13,166
E - 9	10,507	10,887	E - 34	15,289	6,015
E - 11	14,574	9,255	E - 35	13,926	15,96
E - 13	13,010	11,267	E - 36	14,753	13,144

\bar{x}	12,708	9,728		14,983	13,549
SEM	1,597	0,584		0,440	1,987
P <	N.S.			N.S.	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	12,708	14,983	9,728	13,549
SEM	1,597	0,440	0,584	1,987
P <	N.S.		$\approx 0,05$	

Niveles plasmáticos de beta-END antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en pmol/l. Se incluyen los valores de la media (\bar{x}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 11



Representación gráfica de los valores plasmáticos de beta-END antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abcisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maraton y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de las seis muestras; las líneas verticales representan el error standard de la media. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 12.- ACTH PLASMÁTICO (pmol/l)

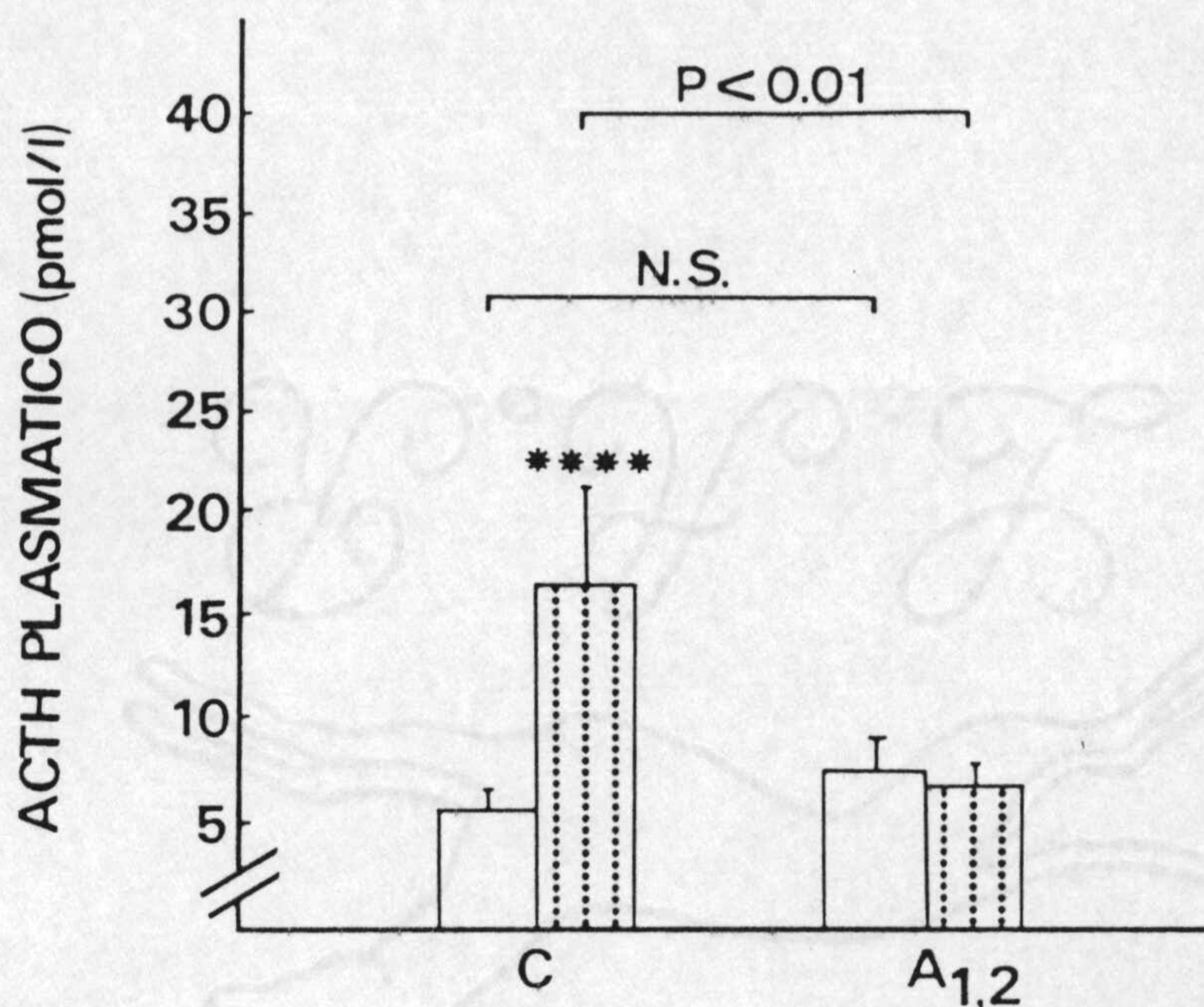
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	4,84	1,76	E - 31	1,76	7,26
E - 5	10,34	9,02	E - 32	4,62	33
E - 8	7,26	8,36	E - 33	4,84	4,18
E - 9	4,62	4,4	E - 34	9,24	14,52
E - 11	12,32	8,36	E - 35	6,6	13,64
E - 13	6,38	8,58	E - 36	6,82	28,6

\bar{x}	7,626	6,746		5,646	16,866
SEM	1,263	1,212		1,032	4,715
P <	N.S.			0,01	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	7,626	5,646	6,746	16,866
SEM	1,263	1,032	1,212	4,715
P <	N.S.		$\approx 0,01$	

Niveles plasmáticos de ACTH antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en pmol/l. Se incluyen los valores de la media (\bar{x}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 12



Representación gráfica de los valores plasmáticos de ACTH antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abcisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras; las líneas verticales representan el error standard de la media. Los asteriscos indican la significación resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos tras el ejercicio ****P < 0,01. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 13.- GLUCOSA (mgr/100 ml)

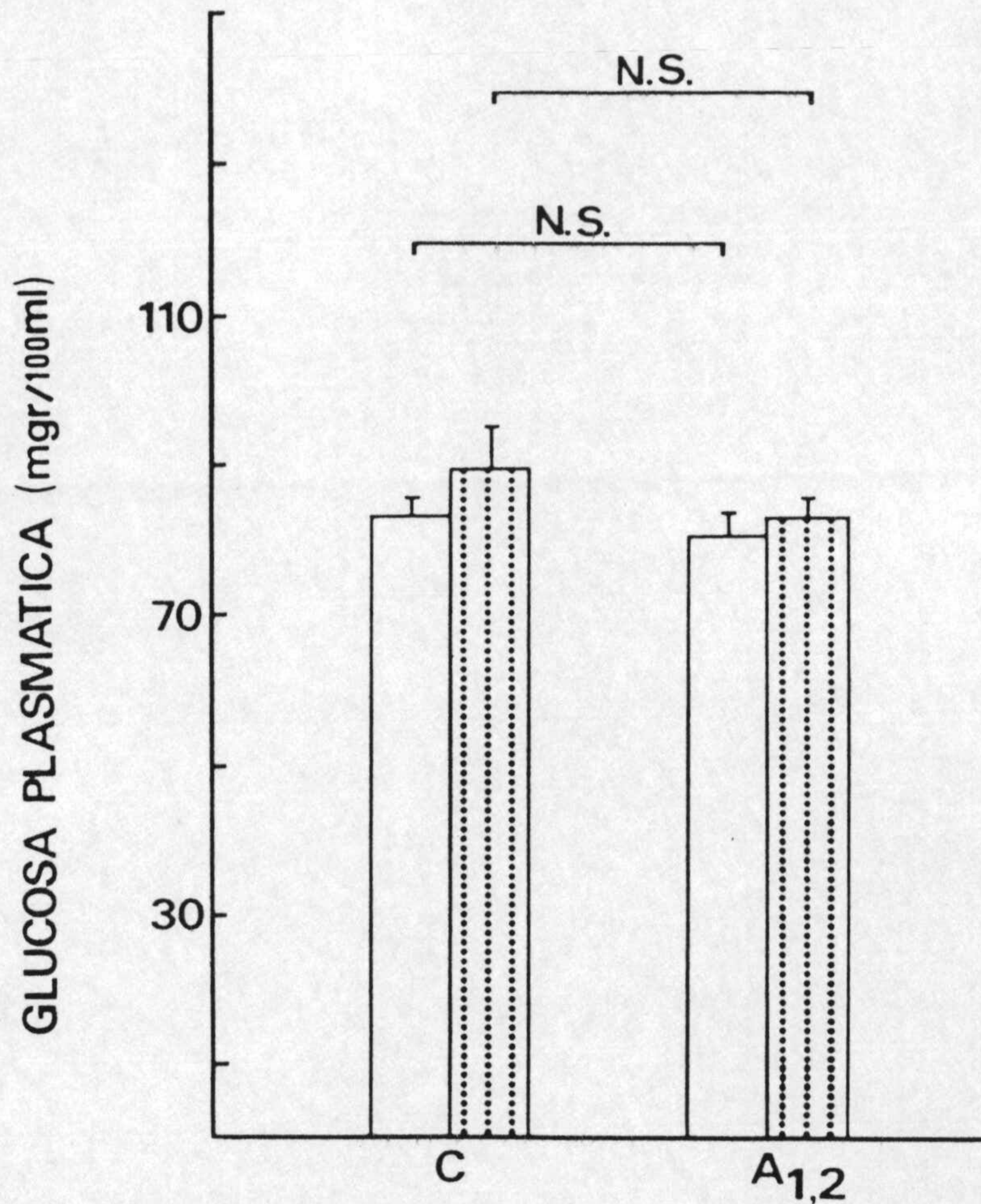
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	88,1	85,5	E - 31	86,3	88,9
E - 5	88,1	90,2	E - 32	82,93	104,3
E - 8	83,7	76	E - 33	82,93	74
E - 9	71,7	75,1	E - 34	77,75	70,5
E - 11	75,1	90,6	E - 35	76	107,9
E - 13	80,3	82	E - 36	94,1	89,8

\bar{x}	81,166	83,233		83,335	89,233
SEM	2,767	2,756		2,645	6,215
P	N.S.			N.S.	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	81,166	83,335	83,233	89,233
SEM	2,767	2,645	2,756	6,215
P	N.S.		N.S.	

Niveles plasmáticos de glucosa antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en mgr/100 ml. Se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 13



Representación gráfica de los valores plasmáticos de glucosa antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abcisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras; las líneas verticales representan el error standard de la media. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 14.- ACIDOS GRASOS LIBRES (mval/1000 ml)

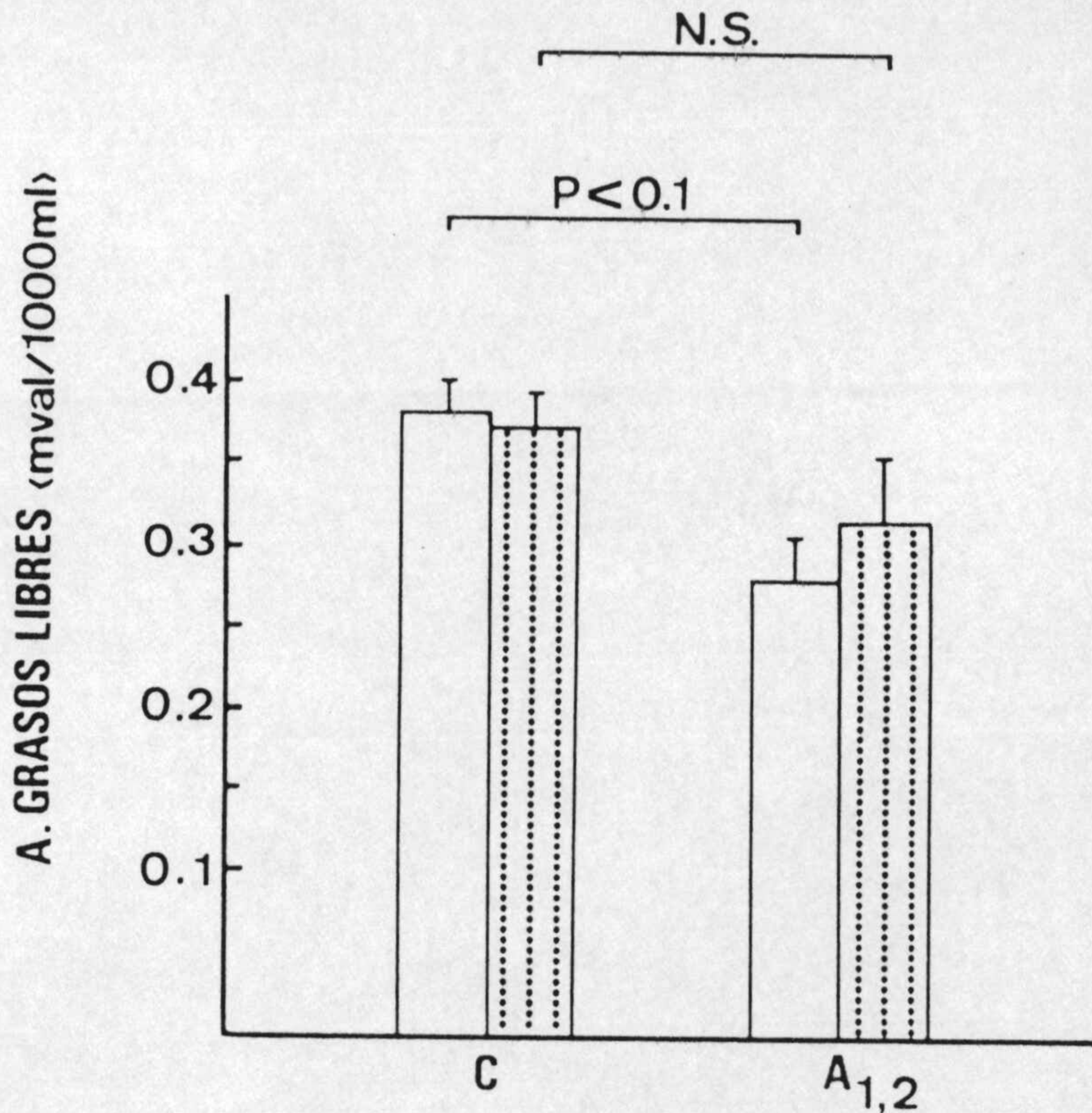
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	0,25	0,24	E - 31	0,48	0,38
E - 5	0,22	0,31	E - 32	0,45	0,49
E - 8	0,27	0,28	E - 33	0,33	0,32
E - 9	0,25	0,27	E - 34	0,34	0,41
E - 11	0,41	0,51	E - 35	0,37	0,34
E - 13	0,29	0,30	E - 36	0,31	0,32

\bar{x}	0,281	0,318		0,38	0,376
SEM	0,027	0,039		0,028	0,026
P	N.S.			N.S.	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	0,281	0,38	0,318	0,376
SEM	0,027	0,028	0,039	0,026
P <	0,1		N.S.	

Niveles plasmáticos de ácidos grasos libres antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en mval/1000 ml. Se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 14



Representación de los valores de los ácidos grasos libres en plasma antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abcisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras; las líneas verticales representan el error standard de la media. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 15.- PROTEINAS PLASMATICAS TOTALES (gr/100 ml)

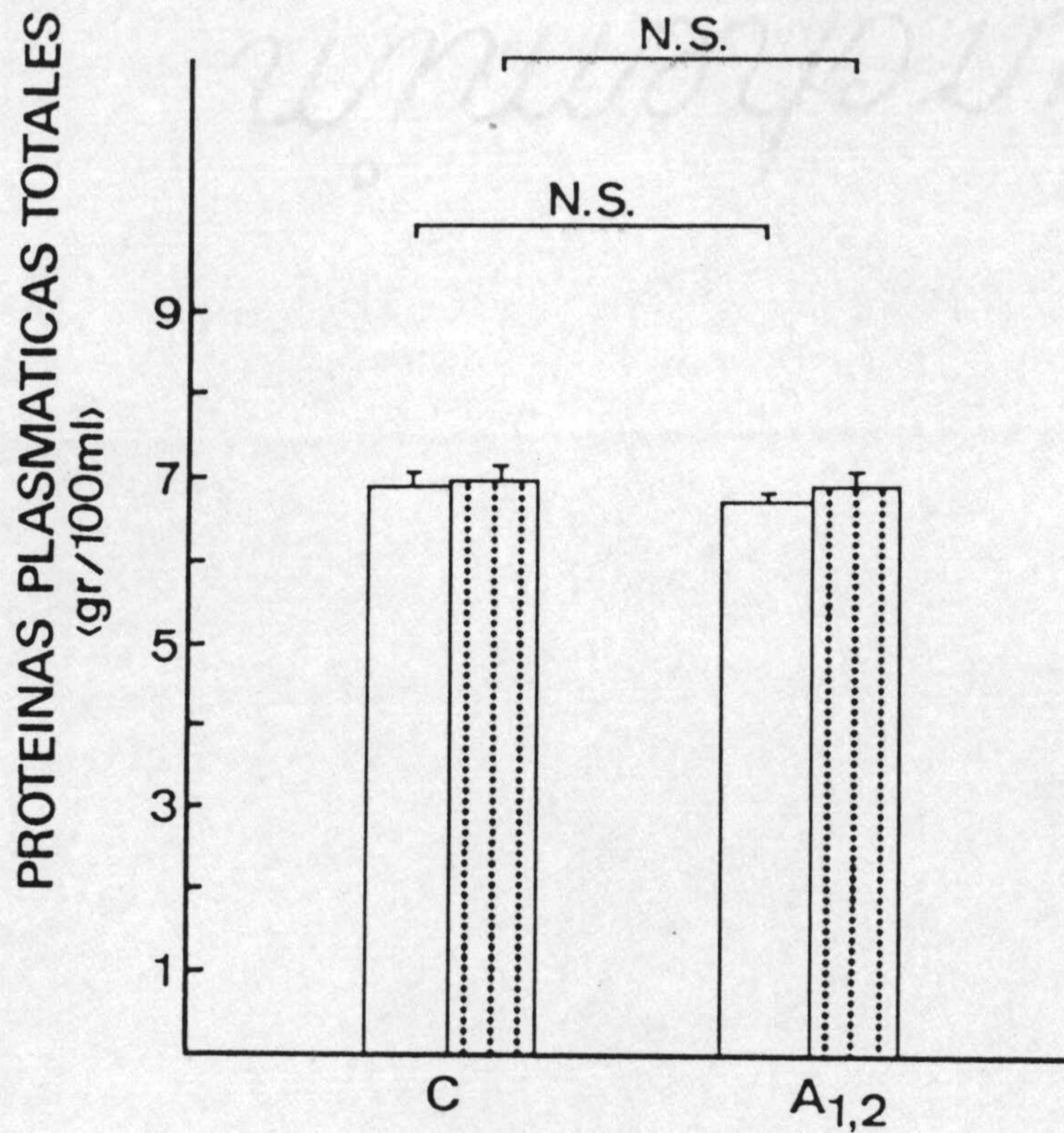
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	6,1	6,3	E - 31	6,9	7,3
E - 5	6,9	7,1	E - 32	6,9	6,5
E - 8	7	7,6	E - 33	6,6	7,1
E - 9	6,6	6,6	E - 34	7,7	7,7
E - 11	7	7,2	E - 35	6,6	6,9
E - 13	6,7	6,7	E - 36	6,8	6,7

\bar{x}	6,716	6,916		6,916	7,033
SEM	0,140	0,192		0,166	0,176
P	N.S.			N.S.	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	6,716	6,916	6,916	7,033
SEM	0,140	0,166	0,192	0,176
P	N.S.		N.S.	

Niveles plasmáticos de proteínas totales antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en gr/100 ml. Se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 15



Representación gráfica de los valores de proteínas plasmáticas totales antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abscisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras; las líneas verticales representan el error estándar de la media. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 16.- LACTATO (mmol/l)

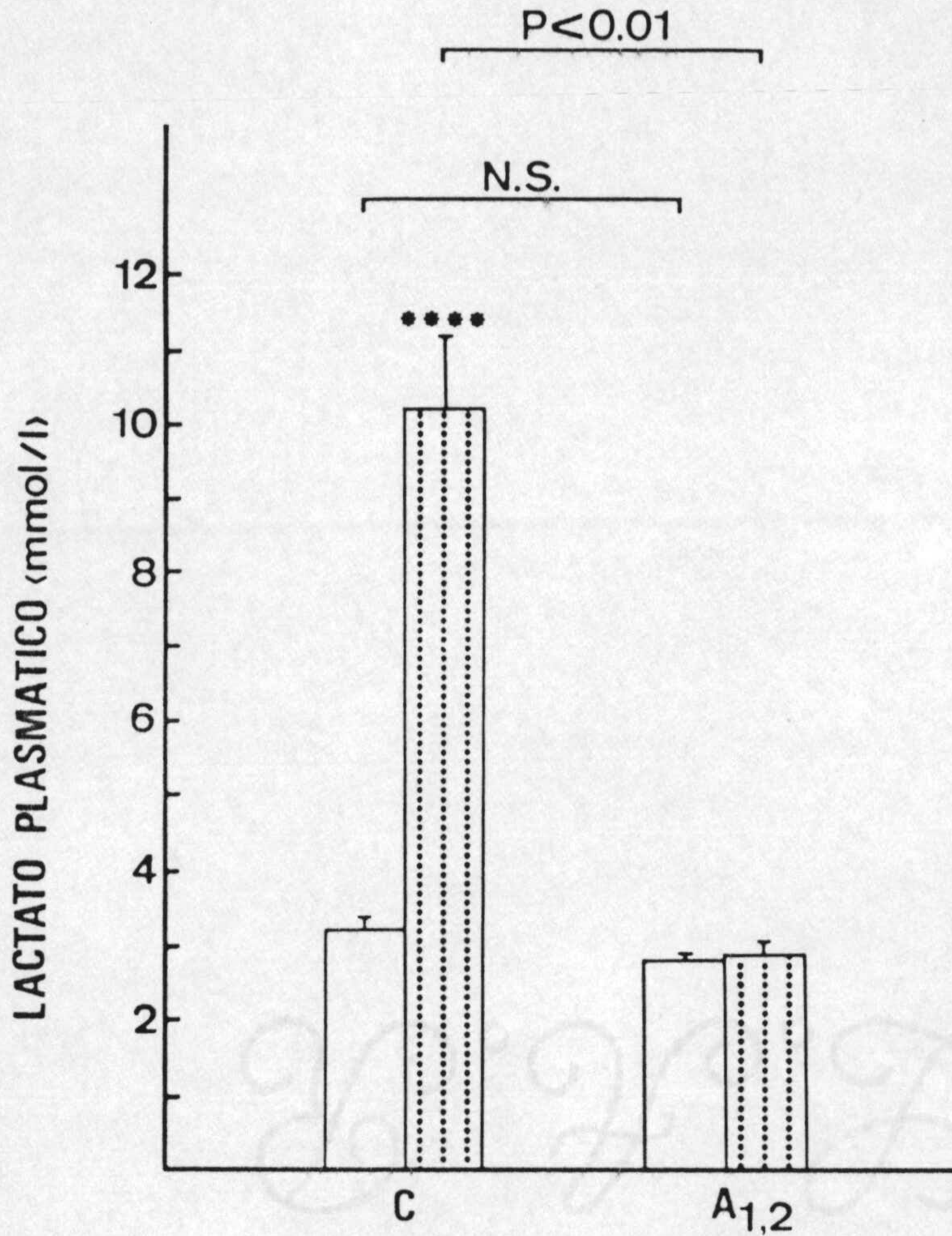
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	3,04	3,25	E - 31	2,44	11,26
E - 5	2,78	3,67	E - 32	2,79	6,30
E - 8	2,92	2,78	E - 33	3,25	8,81
E - 9	2,64	2,38	E - 34	3,67	10,87
E - 11	2,69	2,60	E - 35	3,10	14,06
E - 13	2,4	2,67	E - 36	3,67	10,35

\bar{x}	2,745	2,891		3,153	10,275
SEM	0,091	0,195		0,198	1,058
P <	N.S.			0,01	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	2,745	3,153	2,891	10,275
SEM	0,091	0,198	0,195	1,058
P <	N.S.		0,01	

Niveles plasmáticos de lactato antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en mmol/l. Se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 16



Representación de los valores plasmáticos de lactato antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abscisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras; las líneas verticales representan el error standard de la media. Los asteriscos representan la significación resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos tras el ejercicio. ****P < 0,01. En la parte superior de la gráfica se indica el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 17.- HEMATOCRITO (%)

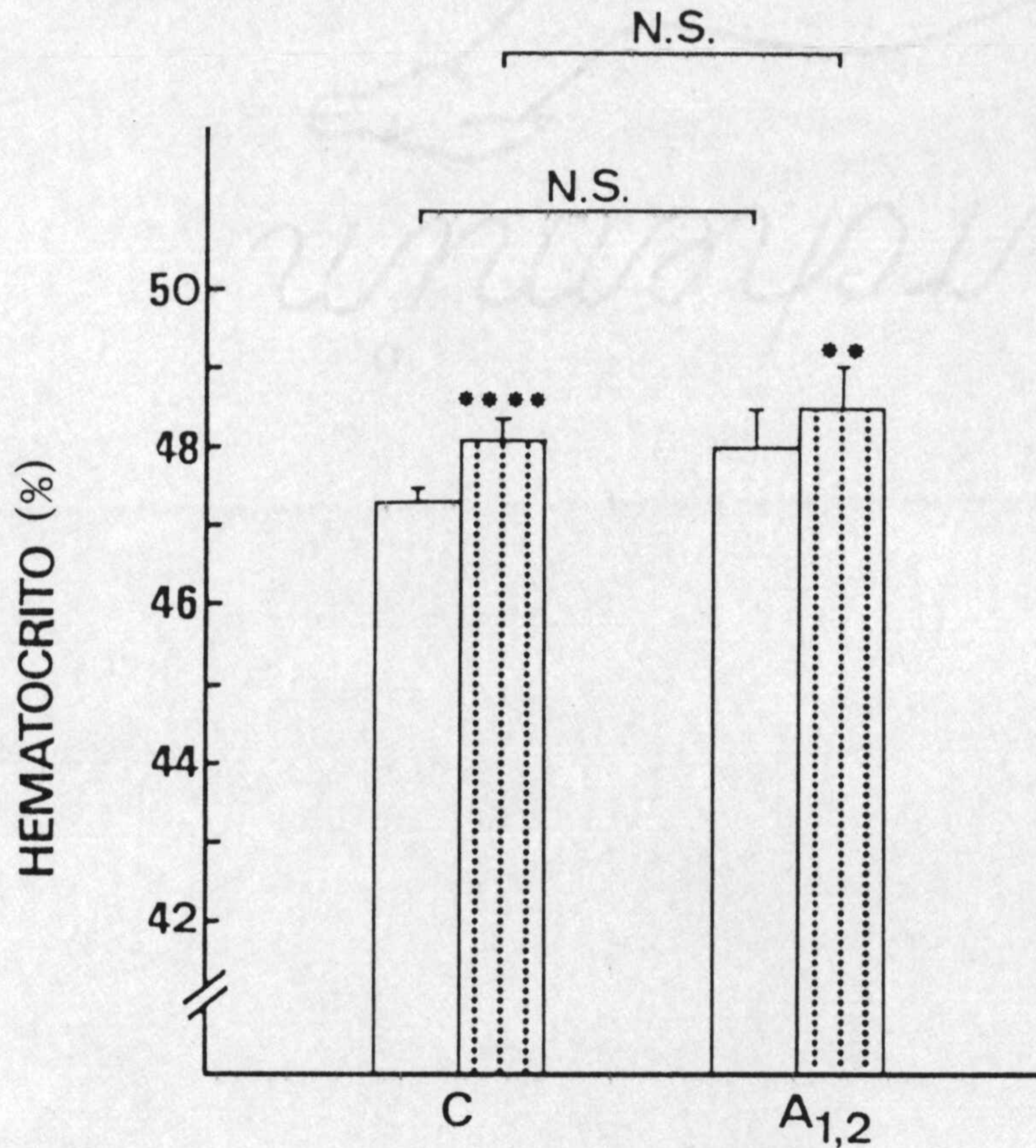
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	49	50	E - 31	48	49
E - 5	48	49	E - 32	47	48
E - 8	46	46	E - 33	47	48
E - 9	48	48	E - 34	47	47
E - 11	49	49	E - 35	47	48
E - 13	48	49	E - 36	48	49

\bar{x}	48	48,5		47,333	48,166
SEM	0,447	0,562		0,210	0,307
P <	0,05			0,01	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	48	47,333	48,5	48,166
SEM	0,447	0,210	0,562	0,307
P <	N.S.		N.S.	

Niveles de hematocrito antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en %. Se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 17



Representación gráfica de los valores de hematocrito antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abscisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras, las líneas verticales representan el error standard de la media. Los asteriscos indican la significación resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos tras el ejercicio. **P < 0,05, ****P < 0,01. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 18.- HEMOGLOBINA (gr/100 ml)

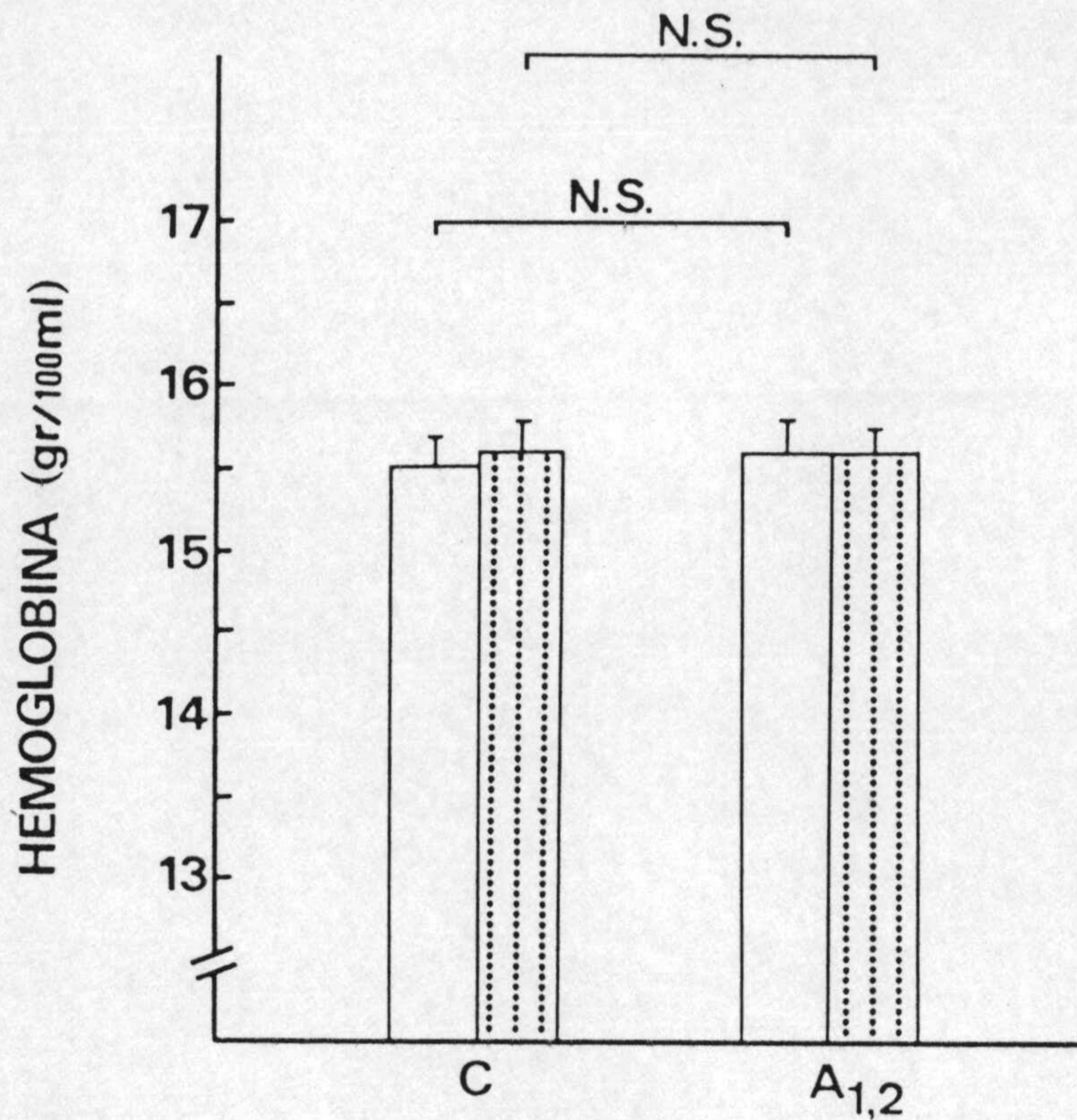
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	15,2	15,6	E - 31	15	15,5
E - 5	15,1	15,4	E - 32	16,4	16,3
E - 8	15,3	15,1	E - 33	15	15
E - 9	15,6	16	E - 34	16	16,1
E - 11	16,2	16,2	E - 35	15,4	15,7
E - 13	16,4	15,8	E - 36	15	15,5

\bar{x}	15,633	15,683		15,466	15,683
SEM	0,223	0,164		0,245	0,190
P	N.S.			N.S.	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	15,633	15,466	15,683	15,683
SEM	0,223	0,245	0,164	0,190
P	N.S.		N.S.	

Niveles de hemoglobina en sangre antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en gr/100 ml. Se incluyen los valores de la media (\bar{x}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 18



Representación gráfica de los valores de hemoglobina en sangre antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abscisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras; las líneas verticales representan el error standard de la media. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 19.- VOLUMEN PLASMÁTICO (%)

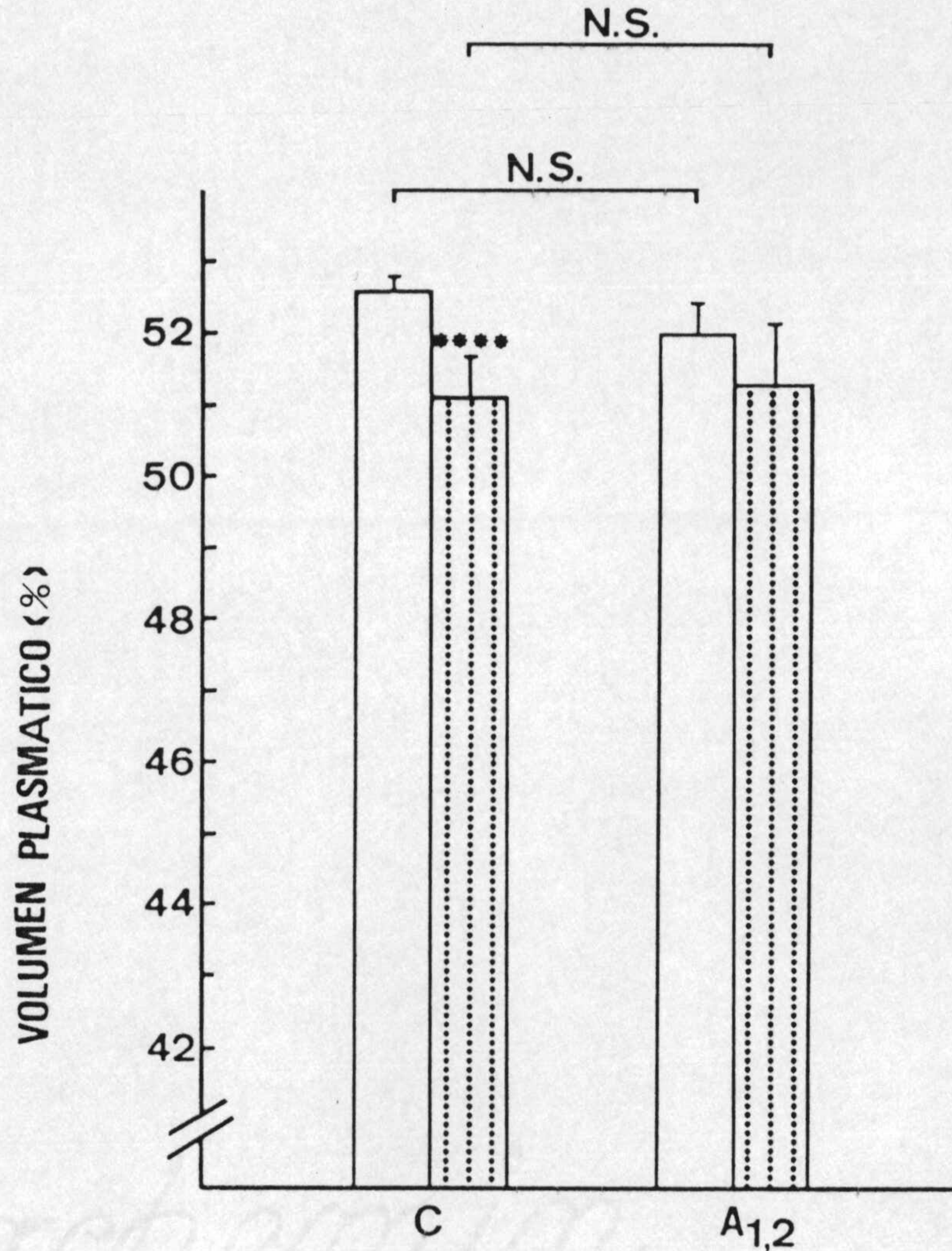
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	51	48,71	E - 31	52	49,35
E - 5	52	50	E - 32	53	52,31
E - 8	54	54,71	E - 33	53	52
E - 9	52	50,7	E - 34	53	52,67
E - 11	51	51	E - 35	53	51
E - 13	52	52,93	E - 36	52	49,35

\bar{x}	52	51,341		52,666	51,113
SEM	0,447	0,877		0,210	0,602
P <	N.S.			≈ 0,01	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	52	52,666	51,341	51,113
SEM	0,447	0,210	0,877	0,602
p	N.S.		N.S.	

Niveles de volumen plasmático antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en %. Se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba de ambos grupos.

GRAFICA 19



Representación gráfica de los valores de volumen plasmático antes y después de la prueba común (3.000 m). En abscisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras; las líneas verticales representan el error standard de la media. Los asteriscos indican la significación resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos tras el ejercicio. ****P < 0,01. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

TABLA 20.- OSMOLARIDAD (mosmoles)

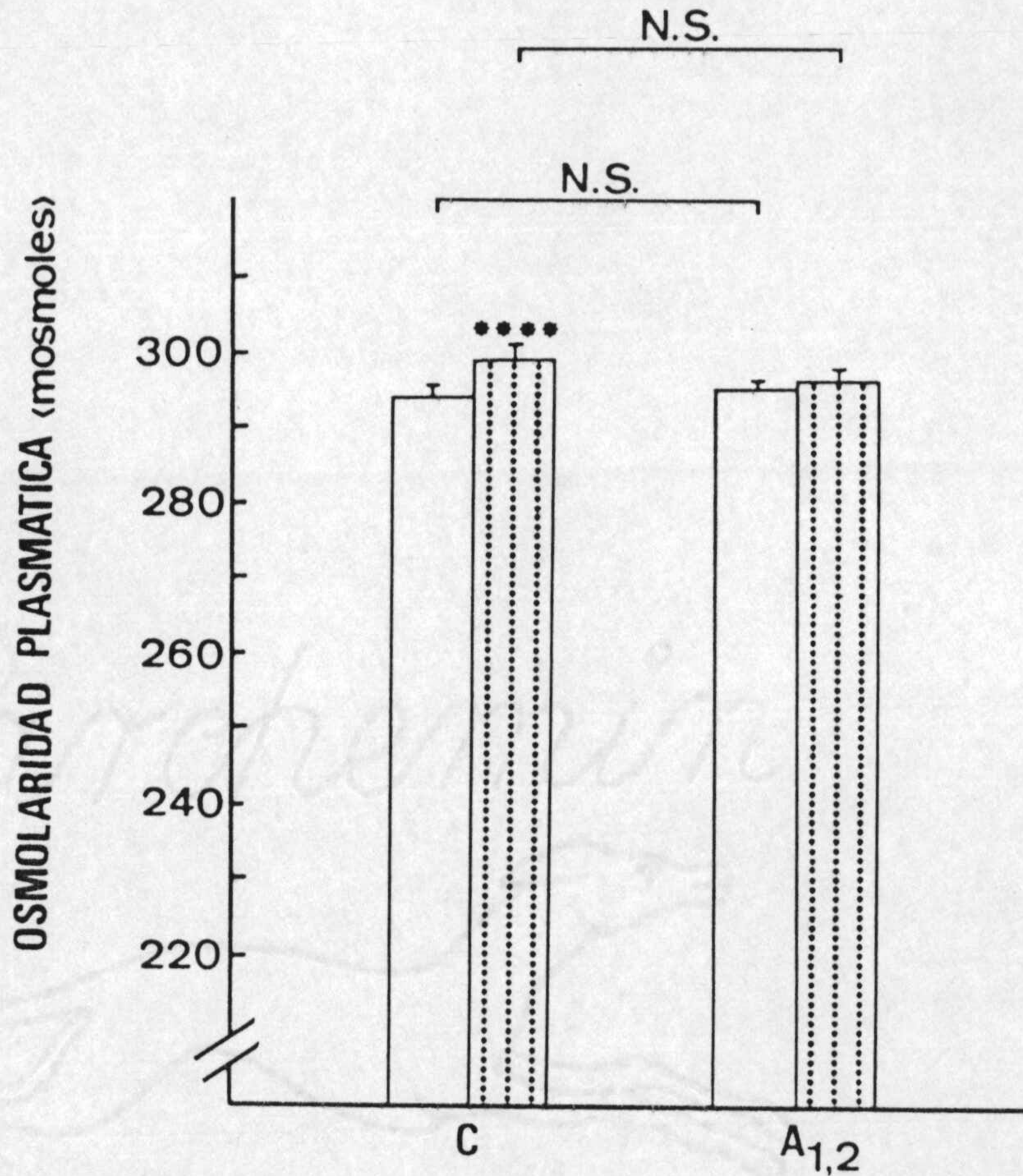
PRUEBA COMUN (3.000 m.)					
ENTRENADOS			CONTROLES		
MUESTRA	BASAL	TRAS	MUESTRA	BASAL	TRAS
E - 1	291,5	292	E - 31	299	309
E - 5	297,5	303	E - 32	292	292
E - 8	292	292	E - 33	297	297
E - 9	295	295	E - 34	294,5	297
E - 11	294	294	E - 35	294	301
E - 13	297	297	E - 36	288,5	299

\bar{x}	294,5	295,5		294,166	299,166
SEM	1,016	1,688		1,509	2,315
P <	N.S.			0,01	

	ENTRENADOS	CONTROLES	ENTRENADOS	CONTROLES
	BASAL	BASAL	TRAS	TRAS
\bar{x}	294,5	294,166	295,5	299,166
SEM	1,016	1,509	1,688	2,315
P	N.S.		N.S.	

Niveles de osmolaridad antes (B) y después (TRAS) de realizar la prueba común (3.000 m.). Las cifras indican los valores individuales expresados en mosmoles. Se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos después de la prueba. En la base de la tabla se incluyen los parámetros estadísticos resultantes de comparar los valores basales de los atletas frente a los controles, así como los valores obtenidos tras la prueba en ambos grupos.

GRAFICA 20



Representación gráfica de los valores plasmáticos de osmolaridad antes y después de la prueba común (3.000 m.). En abscisas se indican los grupos de individuos: controles no entrenados (C) y atletas entrenados para media maratón y fondo (A_{1,2}). Barras vacías, valores basales; barras punteadas, valores después de la prueba. La altura de las barras indica la media de seis muestras; las líneas verticales representan el error standard de la media. Los asteriscos indican la significación resultante de comparar los valores basales frente a los obtenidos tras el ejercicio. **** $p < 0,01$. En la parte superior de la gráfica se representa el nivel de significación resultante de comparar los valores basales y tras el esfuerzo de ambos grupos entre sí.

Paracetamin



L. H. P.

3.3.- TABLAS Y GRAFICAS DE LOS RESULTA-
DOS BIOQUIMICOS OBTENIDOS EN ATLE-
TAS TRAS UN PERIODO DE ABSTINENCIA
AL EJERCICIO FISICO.

TABLA 21.- BETA-END PLASMATICA (pmol/l)

ABSTINENCIA

MUESTRA	0 DIAS	3 DIAS	6 DIAS	9 DIAS
E - 1	14,13	7	$\nu_3 = 14,31$	12
E - 5	20,5	$\nu_2 = 14,31$	20,01	$\nu_1 = 19,26$
E - 10	21	18	22	22,5
E - 12	23,8	19,4	19,1	19,7
E - 13	22	10	20	20

\bar{x}	20,286	13,742	19,084	18,692
SEM	1,639	2,344	1,284	1,765
P <	N.S.	0,01	N.S.	N.S.

Niveles plasmáticos de beta-END a los 0, 3, 6 y 9 días de no realizar ejercicio físico alguno por parte de atletas que previamente entrenaban para correr carreras de larga distancia (media maratón y fondo). Las cifras indican los valores individuales expresados en pmol/l. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores entre tiempos. ANOVA corregido por datos faltantes ν_1 , ν_2 y ν_3 .

TABLA 22.- ACTH PLASMÁTICO (pmol/l)

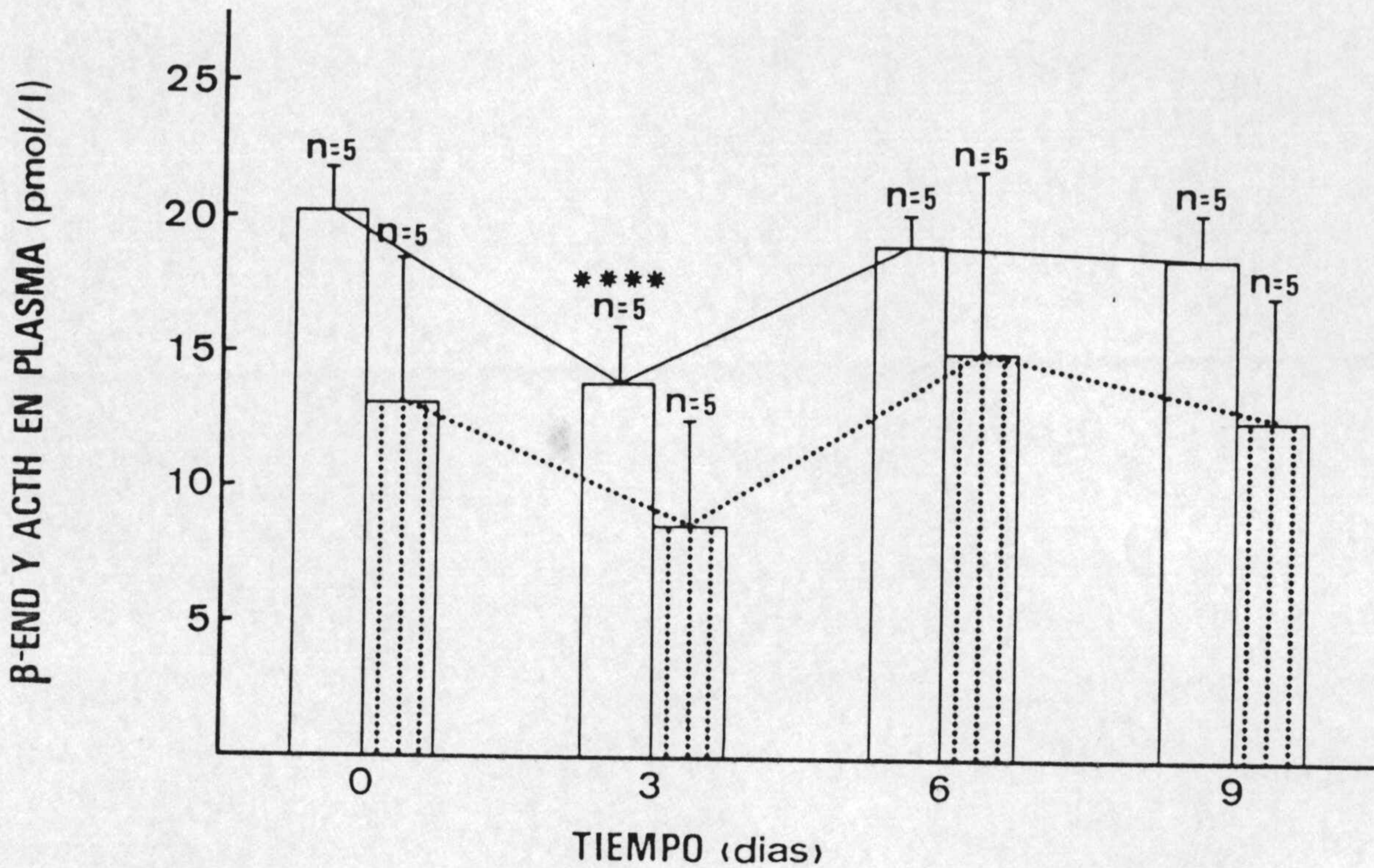
ABSTINENCIA

MUESTRA	0 DIAS	3 DIAS	6 DIAS	9 DIAS
E - 1	3,74	2,86	$\nu_3 = 7,80$	3,3
E - 5	9,24	$\nu_2 = 7,80$	9,68	$\nu_1 = 11,87$
E - 10	9,46	4,84	8,8	9,9
E - 12	35,2	24,2	41,8	30,8
E - 13	7,92	3,3	6,6	7,48

\bar{x}	13,112	8,6	14,936	12,67
SEM	5,616	3,994	6,735	4,752
P <	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.

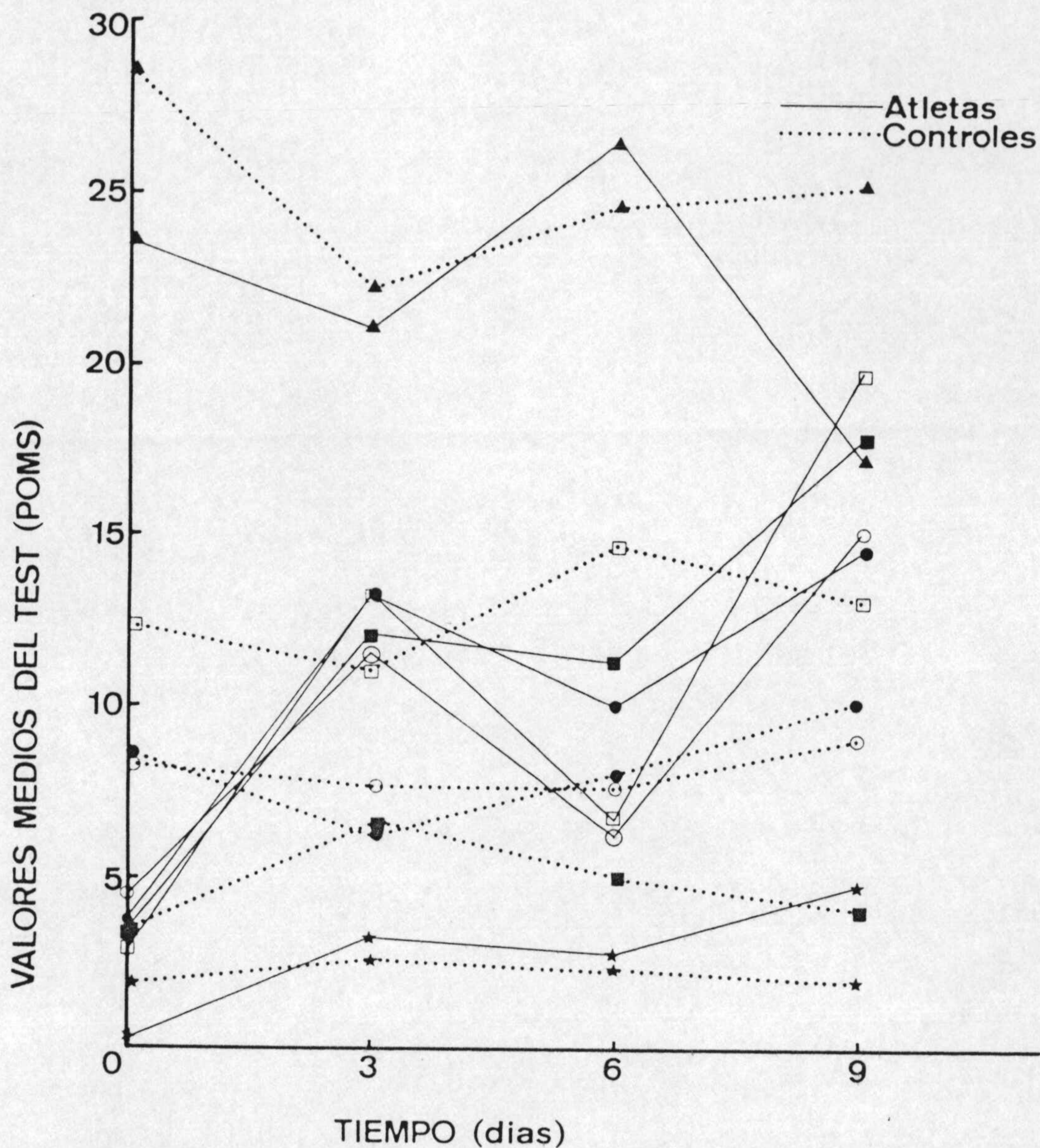
Niveles plasmáticos de ACTH a los 0, 3, 6 y 9 días de realizar una abstinencia al ejercicio físico por parte de individuos que se entrenaban para correr carreras de larga distancia (media maratón y fondo). Las cifras indican los valores individuales expresados en pmol/l. En la base de la tabla se incluyen los valores de la media (\bar{X}), error standard de la media (SEM) y nivel de significación (P) resultante de comparar los valores entre tiempos. ANOVA corregido por datos faltantes ν_1 , ν_2 y ν_3 .

GRAFICA 21



Representación gráfica de los valores plasmáticos de beta-END y ACTH a los 0, 3, 6 y 9 días de realizar una abstinencia al ejercicio físico. En abscisas se indican los tiempos (días). Barras vacías, valores basales de beta-END; barras punteadas, valores basales de ACTH. La altura de las barras indica la media de las N muestras; las líneas, el error standard de la media. ****p < 0,01.

GRAFICA 22



Representación de los valores obtenidos al someter a un grupo de atletas de fondo y a un grupo control a un test POMS. En el tiempo 0 los atletas interrumpieron bruscamente el ejercicio físico, y en los tiempos indicados en la gráfica se evaluó su estado anímico mediante un test POMS. Paralelamente, a un grupo de individuos que no realizaban ejercicio físico, se les examinó su estado anímico en intervalos regulares de 3 días. (▲) Vigor, (■) Fatiga, (●) Tensión, (★) Confusión, (□) Depresión y (○) Hostilidad.



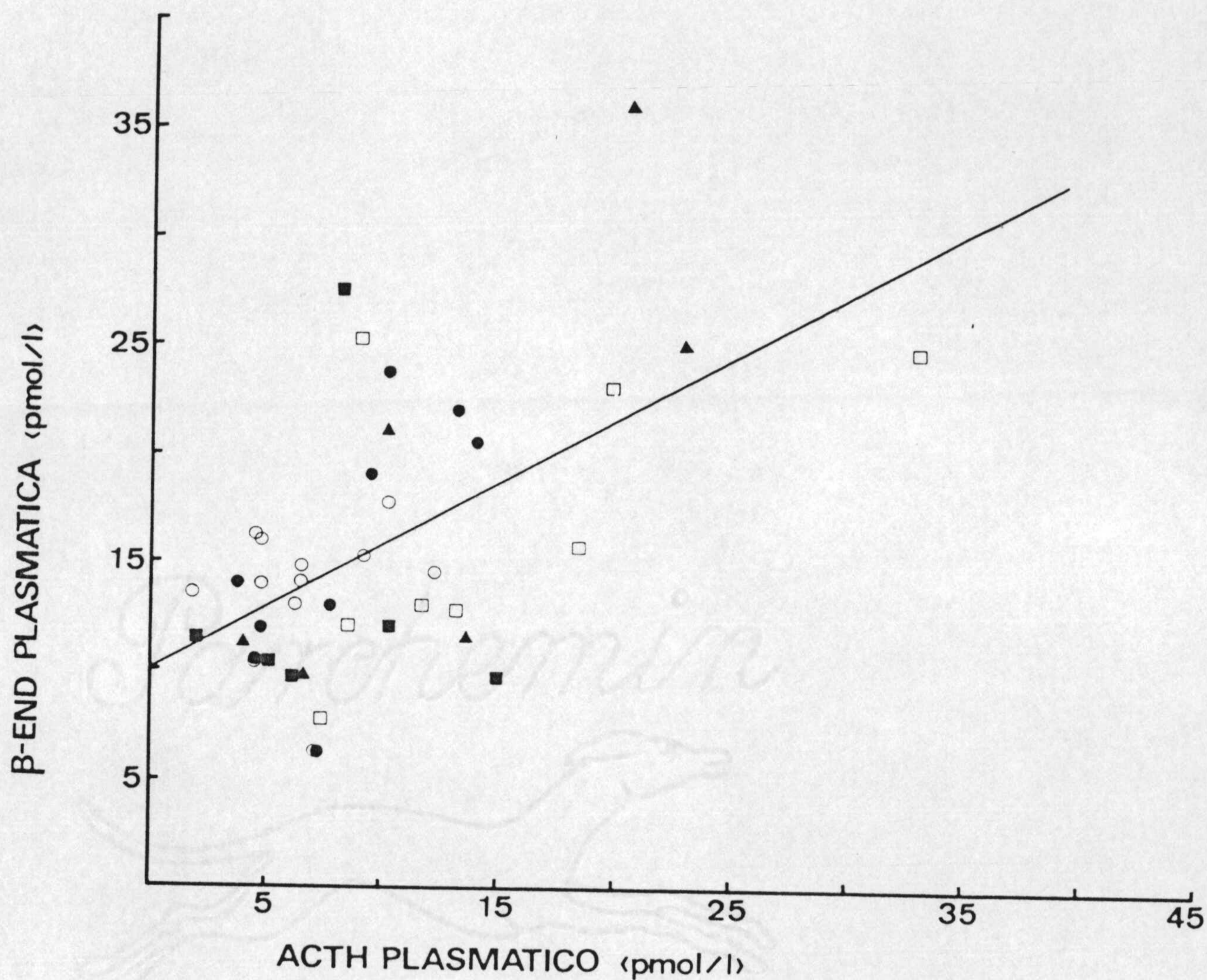
L. H. B.

4.4.- ESTUDIO DE LA CORRELACION EXISTENTE ENTRE BETA-END y ACTH.

Parachemim

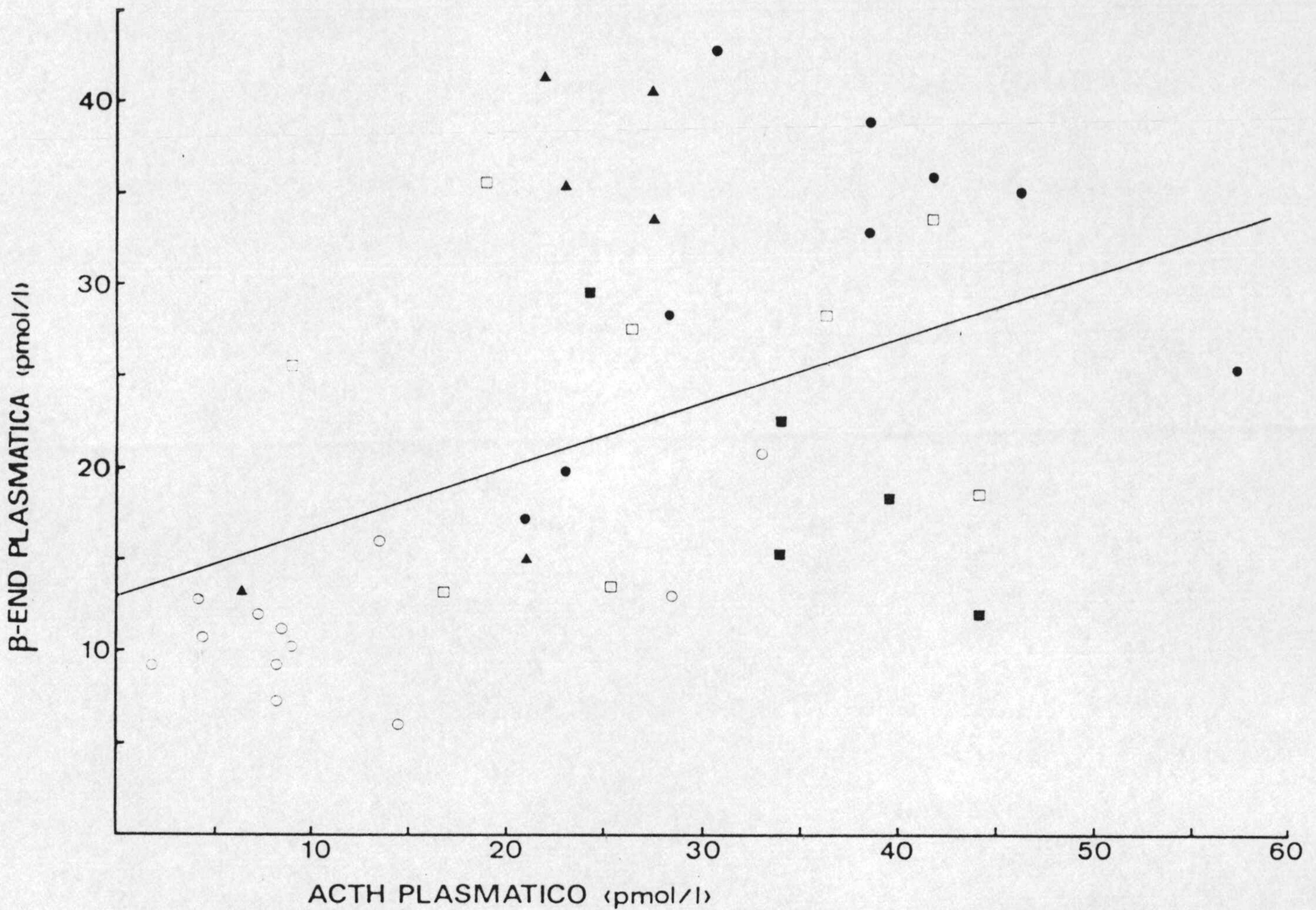


GRAFICA 23



Recta de regresión lineal resultante de correlacionar los niveles de beta-END y ACTH en condiciones basales (antes de la prueba). Ecuación de la recta: $y = 0,5795x + 9,8606$; coeficiente de regresión: $r = 0,57$. Los valores están correlacionados ($P < 0,001$). (●) Media maraton, (▲) Fondo, (■) Medio fondo, (□) Velocidad y (○) Prueba común.

GRAFICA 24



Recta de regresión lineal resultante de correlacionar los niveles de beta-END y ACTH después de las distintas pruebas físicas. Ecuación de la recta: $y = 0,3488x + 12,9218$; coeficiente de regresión: $r = 0,49$. Los valores están correlacionados ($P < 0,001$). (●) Media maratón, (▲) Fondo, (■) Medio fondo, (□) Velocidad y (○) Prueba común.

TABLA 23.- PERDIDA DE AGUA PLASMATICA (%)

	\bar{X}_B	\bar{X}_t	SEM _B	SEM _t	%
VELOCIDAD	292,18	303,25	2,104	3,778	3,8
MEDIO FONDO	291,66	300,66	2,407	3,818	3,1
FONDO	287,33	294,33	1,646	3,062	2,4
MEDIA MARATON	299,44	305,66	1,895	0,975	2,1
PRUEBA COMUN (Atletas)	294,5	295,5	1,016	1,688	0,3
PRUEBA COMUN (Controles)	294,166	299,166	1,509	2,315	1,7

Pérdida de agua plasmática calculada a partir de los datos de osmolaridad.

Parthenium



L. H. P.

4.- DISCUSSION

4.1.- MARCO DE LA PRESENTE INVESTIGACION

Las primeras y recientes investigaciones en relación con el ejercicio físico y péptidos neuroactivos han puesto de manifiesto que el ejercicio es un potente estímulo de la secreción de beta-END y ACTH. No obstante, los pocos estudios existentes sobre el tema se han limitado a determinar los valores de beta-END antes y después de pruebas de gran longitud. No hay datos disponibles sobre el nivel de esfuerzo requerido para incrementar significativamente los niveles periféricos de este péptido. Asimismo, las investigaciones previas carecen de controles adecuados como son la osmolaridad y la hemoconcentración, que podrían explicar, al menos en parte, los incrementos de la concentración de beta-END detectados tras el ejercicio físico. Finalmente, se ha considerado importante el determinar analíticamente y de forma paralela a los péptidos, los sustratos energéticos musculares -ácidos grasos y glucosa- y un importante metabolito, el lactato.

Se han establecido cuatro grupos experimentales de atletas varones con marcas nacionales o próximas, estando cada atleta inserto en el grupo que le era natural a su preparación y posterior competición. Estos grupos de atletas fueron:

- A₁.- De medio maraton (22 km.)
- A₂.- De fondo (5.000 m.)

A₃.- De medio fondo (800-1.500 m.)

A₄.- De velocidad (100, 200, 400 m.)

Se determinaron los niveles basales periféricos de beta-END y ACTH antes de la carrera preparada al efecto y tras la prueba.

Otra cuestión planteada en el presente estudio es si beta-END está relacionada con el síndrome de abstinencia descrito en atletas que practican la carrera de larga duración diariamente, al interrumpir bruscamente la práctica deportiva (como puede ocurrir debido a una lesión). Se ha sugerido que la sintomatología pudiera estar relacionada con la beta-END. Por esta razón, se han determinado los niveles endógenos de beta-END y ACTH en atletas provenientes de los grupos experimentales A₁ y A₂ a los 0, 3, 6 y 9 días de no realizar ejercicio físico. Con objeto de tener una orientación del estado de ansiedad de los atletas en abstinencia, se sometieron a un test psicológico "profile of mood states" (POMS) los días antes señalados.

Otro aspecto tratado en este estudio está relacionado con la observación de que el corredor entrenado durante años tiene mayor facilidad para incrementar la liberación de beta-END periférica ante un ejercicio dado que los sujetos sedentarios. Así hemos determinado los niveles basales y tras un ejercicio determinado (3 km.) de beta-END y ACTH en atletas provenientes de los grupos experimentales A₁ y

A₂ y un grupo control (individuos no entrenados) comparable en sexo y edad al grupo experimental. Esta prueba también aportaría información sobre si el stress producido por el ejercicio es un estímulo para aumentar la liberación de beta-END.

4.2.- SOBRE LOS METODOS DE DETERMINACION DE ACTH Y BETA-END EN PLASMA.

4.2.1.- ACTH

Desde hace tiempo diversas técnicas contemplan la determinación de ACTH en extractos de tejido hipofisario. Estos métodos se basan en su gran mayoría en las respuestas adrenales originadas por el ACTH. Sin embargo, a pesar de su fiabilidad y especificidad carecen de la sensibilidad necesaria para detectar ACTH plasmático.

Más recientemente se ha podido determinar ACTH en plasma aún cuando era necesario concentrar la hormona por algún procedimiento de extracción antes del análisis (Ney y col., 1.963).

Inicialmente, el ACTH se determinó por métodos indirectos, como son:

- a) Determinación de la elevación aguda de corticosterona en plasma de ratas hipofisectomizadas.

- b) Determinación de corticosterona producida por suspensiones frescas de células adrenales.

Actualmente solo se emplea un método directo, por su sensibilidad, exactitud y reproducibilidad: el radioinmunoanálisis (RIA). Mediante esta técnica se determina el grado de desplazamiento de ACTH marcado unido a anticuerpos específicos anti-ACTH por el ACTH contenido en el material biológico, conociendo su efecto competidor (Berson y col., 1.973; Yallow, 1.982). El RIA de ACTH está muy perfeccionado en la actualidad, y no es necesario realizar una extracción previa.

4.2.2.- BETA-END

La determinación cuantitativa de beta-END en plasma se puede realizar por diferentes métodos que pasamos a describir sintéticamente a continuación:

- a) El primero de ellos es el denominado ensayo por radioreceptor (RRA). Este análisis se basa en la afinidad que muestran los péptidos opiáceos endógenos para ligarse a receptores específicos, la cuantificación se realiza midiendo la cantidad de ligando sintético marcado unido al receptor específico que ha sido desplazado por los péptidos opiáceos endógenos en la prueba (Puig, 1.980). Esta técnica presenta el inconveniente de su inespecificidad debi-

do a que moléculas no opiáceas son capaces de ligarse al receptor "in vitro", al igual que su complejidad, por lo cual no pueden realizarse un gran número de análisis.

b) El bioanálisis se basa en la capacidad que tienen los compuestos morfínomiméticos de inhibir las contracciones del conducto deferente del ratón, ileón o fibras longitudinales del plexo mioentérico de coballa originadas por la estimulación eléctrica. Esta técnica es sin duda altamente específica para determinar la presencia de material opiáceo "in vitro" debido a que estas preparaciones solo responden a material opiáceo biológicamente activo (Hughes, 1.975; Laorden y col., 1.982). No obstante, este método no es selectivo para una sola especie molecular, por lo que se realiza, en realidad, una medición cuantitativa total de la actividad opiácea (Frederickson y Geary, 1.982).

c) El radioinmunoanálisis (RIA) ya mencionado anteriormente para la determinación de ACTH plasmático, es la técnica más utilizada en la actualidad para cuantificar la beta-END, permitiendo su análisis específico, si bien en determinados casos presenta el inconveniente de tener reacción cruzada con otros péptidos estructuralmente relacionados. Debido a esto, es aconsejable realizar una purificación previa del péptido antes de proceder a su determinación.

4.3.- DETERMINACION DE ACTH Y BETA-END

En la actualidad, la determinación tanto de beta-END como de ACTH plasmático, se realiza en casi la totalidad de los equipos de investigación mediante el RIA. El presente estudio ha empleado un RIA, basado en la reacción Ag-Ac con determinación directa de ACTH y beta-END por desplazamiento específico. El anticuerpo utilizado para el antígeno beta-END humano sintético es de conejo, asegurándose la precipitación tras la adición de un segundo anticuerpo. La adición tardía de beta-END marcada mejora la sensibilidad del método que es de 2 pg./l. de beta-END. En el caso del ACTH, el anticuerpo utilizado ha sido obtenido de conejo por inyección de ACTH unido a la albúmina bovina. El inmunocomplejo radiactivo formado, se separa del ACTH libre por adsorción de este último sobre carbón, obteniéndose una sensibilidad de 10 ± 4 pg./ml. de ACTH.

La dificultad en la obtención de un anticuerpo para beta-END altamente específico, hace que se deba realizar una purificación previa al RIA de esta hormona. Debido a que la beta-LPH contiene la secuencia aminoacídica de la beta-END, es posible la inmunoreactividad cruzada con el anticuerpo. Esa dificultad, sin embargo, no se presenta en la determinación de ACTH, debido a la alta especificidad del anticuerpo utilizado, así como a la escasa reactividad cruzada de éste con otras moléculas.

Las técnicas utilizadas en la extracción de beta-LPH o purificación de beta-END, son varias. A continuación se citan algunas de las más importantes:

a) Suda y colaboradores realizan una adsorción de beta-LPH y beta-END en ácido ontosilícico para eludir posteriormente con acetona separando ambos péptidos en columnas (Suda y col., 1.978). Este método tiene el inconveniente de no poder detectar los niveles de beta-END plasmática en individuos normales.

b) Holtt y colaboradores emplean de igual forma la adsorción en ácido ontosilícico, detectando actividad similar a beta-END de 200 pg./ml. (Holtt y col., 1.979).

c) Wardlaw y Frantz realizan la adsorción en talco, con posterior elución en acetona. La muestra es secada y cromatografiada determinandose 54-160 pg./ml. de beta-LPH y 14-32 pg./ml. de beta-END (Wardlaw y Frantz, 1.979).

d) Weideman y colaboradores, así como Anhut y colaboradores determinan beta-END en plasma no extraído, para lo cual utilizan un anticuerpo que virtualmente no mostraba inmunoreactividad cruzada con beta-LPH (Weideman y col., 1.979; Anhut y col., 1.981).

e) Diferentes autores utilizan una extracción en columnas de sephadex seguida de una cromatografía (Nakao y col., 1.980 ; Yamaguchi y col., 1.980; McLoughin y col., 1.980; Krieger y col., 1.981 ; Fachinetti y col., 1.982).

Tras un exámen de estas técnicas, se observa que el sephadex y el ácido ontosilícico no separan eficazmente la beta-LPH y la beta-END del material inespecífico. Mientras que la extracción por gel de afinidad ha mostrado ser un buen método de concentración de beta-LPH y beta-END, siendo un método excelente para la medición simultánea de ambos péptidos. La determinación por cromatografía directa del plasma es muy exácta, aunque su complejidad hace este método difícil para el análisis de un gran número de muestras.

En base a lo anteriormente expuesto, el presente estudio ha realizado la purificación de beta-END en dos pasos. El primero de ellos consistió en añadir a las muestras sefarosa anti-beta-LPH, con lo cual se elimina en gran medida las interferencias que pudieran ocurrir en la determinación de beta-END al eliminar las moléculas de beta-LPH presentes en la muestra a la vez de simplificarse el método, ya que elimina la necesidad de cromatografiar la muestra tras la extracción. El segundo paso consistió en la extracción en columnas de ODS-silica, obteniéndose una alta recuperación de beta-END plasmática a distintas concentraciones que se muestran a continuación.

<u>pmoles/l</u>	<u>% DE RECUPERACION</u>
10	120
20	110
40	103
80	80

A pesar de ser un método altamente específico y tener unas pérdidas mínimas en los pasos de extracción de beta-LPH y de beta-END, hemos querido constatar en nuestro laboratorio mediante un control de calidad, su precisión. Así, se ha verificado que en el primer paso (adición de anti-beta-LPH a la muestra), las pérdidas de beta-END son de un 10,18 %, ésto posiblemente sea debido a una inmunoreactividad cruzada entre sefarosa anti-beta-LPH con la beta-END, así como a pérdidas motivadas por las fuerzas de adherencia a las paredes del tubo (ver cuadro 1 de Material y Métodos). Tras la extracción de beta-LPH y con el fin de evitar las interferencias motivadas por la unión de beta-END a componentes plasmáticos de alto peso molecular cuando el pH del medio alcalino, se acidificó el medio con 0,1 ml. de ClH. El segundo paso (extracción por columnas de ODS-silica gel) arrojó unas pérdidas de beta-END de un 34,22 % (ver cuadro 2 de Material y Métodos). Estas pérdidas se suponen ocasionadas principalmente por el ácido acético al pasar por la columna. Si bien esta sustancia tiene la finalidad de arrastrar todas aquellas sustancias que pudieran interferir en el análisis como son los péptidos de peso molecu-

lar alto, puede ocurrir que péptidos de peso molecular medio, como es el caso de la beta-END, sean arrastrados a pesar de las precauciones tomadas, como es la lentitud en el paso a través de la columna. De igual forma, la fuerza de adherencia a las paredes del tubo afectan a este segundo paso.

En consecuencia las pérdidas obtenidas en el proceso de purificación de beta-END en el presente estudio son de un 42,68 %, siendo significativamente menores a aquellas referidas por otros autores (Wardlaw, 1.979; Holtt, 1.979; Nakao, 1.980).

La reciente descripción (Weber y col., 1.983) de cinco tipos de endorfina (beta-END 1-31, 1-27, 1-26, alfa y gamma) hace que los valores obtenidos en el presente estudio sean debidos al "pool" endorfinérgico, más que a una única especie molecular. En la actualidad no existe un anticuerpo específico para cada tipo, aunque podemos sugerir que la hormona predominante de estas cinco, es la beta-END (1-31), en función de lo descrito en la literatura (Krieger y col, 1.980; Weber y col., 1.983).

4.4.- SOBRE LA PERDIDA DE AGUA PLASMÁTICA

Toda actividad física produce una depleción del volumen plasmático en mayor o menor grado dependiendo de distintos factores físicos y biológi-

cos. Esta pérdida de agua podría alterar la concentración de los componentes sanguíneos. Los trabajos previos, que han estudiado la liberación de beta-END y ACTH a nivel periférico estimulada por el ejercicio físico (Fraiola y col., 1.980; Carr y col., 1.981), adolecen de la falta de datos paralelos que den información sobre la pérdida de agua corporal originada por la actividad física.

La depleción del volumen plasmático va a depender fundamentalmente de factores ambientales, factores debidos al ejercicio en sí y factores corporales. Los factores ambientales que van a condicionar la sudoración son la temperatura y la humedad relativa . Igualmente la intensidad y la duración del ejercicio van a originar una pérdida de agua directamente proporcional a ellos. Finalmente, distintos factores corporales, como son el peso, preparación física y estado nutricional, también van a influir sobre la depleción del volumen plasmático.

Debido a la posibilidad de que la hemoconcentración fuera la causa, al menos parcial, del incremento de los niveles de péptidos circulantes observados al finalizar el ejercicio físico, se han determinado cinco parámetros bioquímicos. Estos son: osmolaridad, hemoglobina, hematocrito, volumen plasmático y proteínas plasmáticas totales. En conjunto, estos datos proporcionan un índice muy fiable de la pérdida de agua plasmática originada por las diferentes pruebas atléticas.

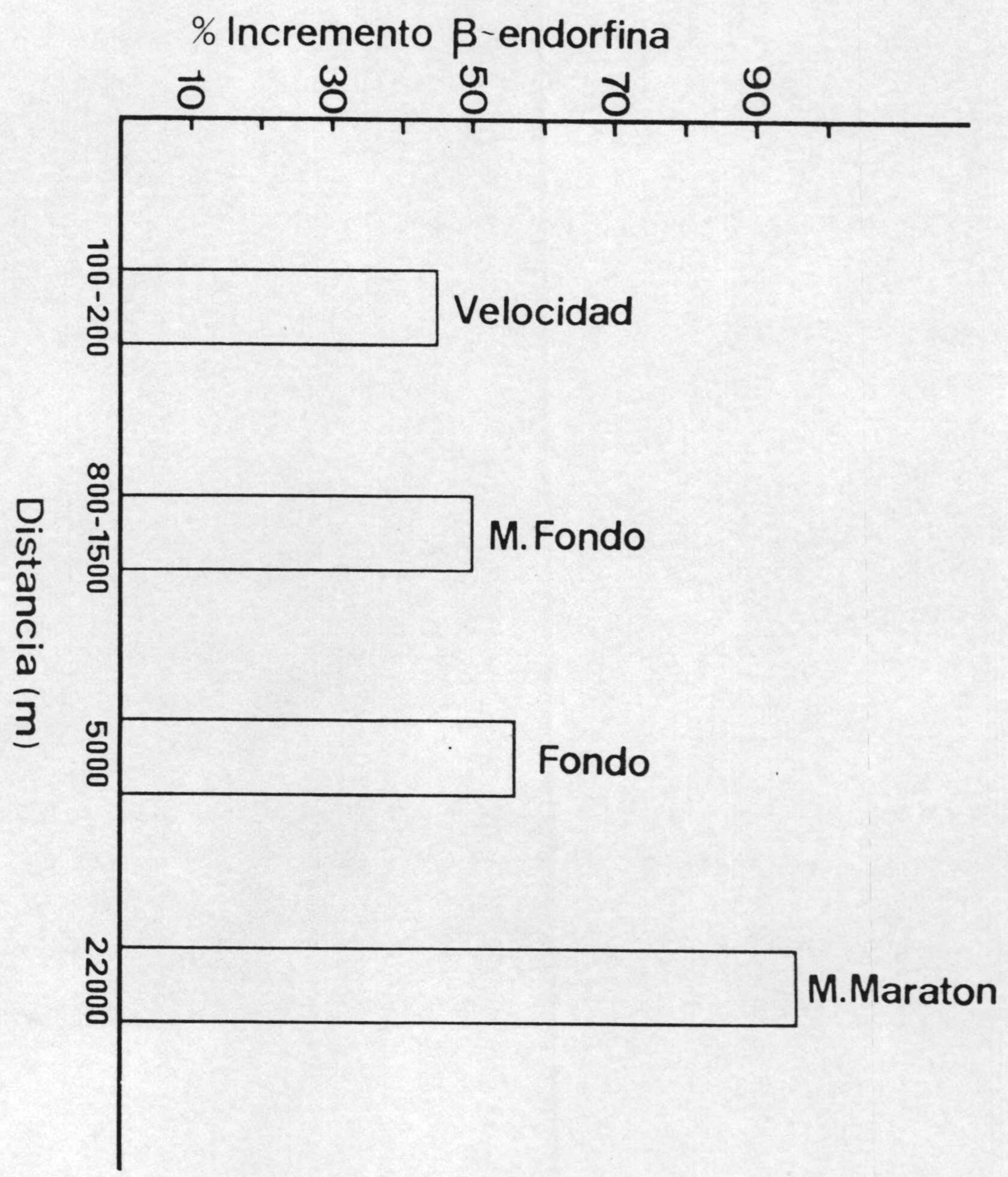
Como puede observarse en la tabla 23, la pérdida de agua plasmática media observada fué de un 4 % en las pruebas de velocidad, de un 3 % en medio fondo, de un 2 % en fondo y de un 2 % en media maraton. Como será discutido posteriormente con mayor detalle, los altos incrementos encontrados tras el ejercicio físico no pueden ser explicados en base a estas pérdidas hídricas.

4.5.- EFECTO DE LAS DISTINTAS PRUEBAS ATLETICAS SOBRE LA LIBERACION DE BETA-END

Los resultados obtenidos muestran que el ejercicio físico produce un incremento de los niveles plasmáticos de beta-END. Asimismo, se han observado incrementos significativos de beta-END en todas la pruebas físicas, siendo estos incrementos proporcionales a la distancia recorrida (ver gráfica 25). Es importante poner énfasis en estos hallazgos, ya que hasta el momento presente la literatura solo hace referencia de la liberación de beta-END después de pruebas físicas de larga distancia.

Se ha observado un aumento significativo ($p < 0,001$) en los corredores que realizaron la prueba de media maraton (22 km.). En este caso, el incremento encontrado de beta-END fué de un 95 % (tabla 1, gráfica 1). Este aumento no puede explicarse en base a la pérdida de agua plasmática sufrida por los

GRAFICA 25



atletas que fué de un 2 % en osmolaridad y de un 2% en proteínas plasmáticas totales, siendo éste último incremento no significativo.

En la prueba de fondo (5.000 m.) se observó un incremento de un 56 % ($P < 0,05$) de beta-END plasmática. Estos atletas sufrieron una pérdida de agua plasmática de un 2 %, calculada a partir de la osmolaridad o bién de un 6 %, si tomamos como referencia el volumen plasmático. El aumento no significativo observado para las proteínas plasmáticas totales fué de un 2 % (tabla 1, gráfica 1).

Los incrementos de beta-END plasmática observados en la prueba de medio fondo (1.500-800 m.) fueron ligeramente inferiores a los anteriores (51 %; $P < 0,05$). En esta prueba, los atletas sufrieron una pérdida de agua plasmática de un 3 % según la osmolaridad y de un 5 % en volumen plasmático. Asimismo, el aumento encontrado en proteínas plasmáticas totales fué de un 1 % que como en las pruebas anteriores no fué significativo.

En la prueba atlética más corta, velocidad (200 y 100 m.), se observaron incrementos de beta-END sérica de un 45 % ($P < 0,05$). La pérdida de agua plasmática sufrida en este caso fué de un 4 % calculada según la osmolaridad y de un 7 % en volumen plasmático. El aumento observado en proteínas plasmáticas totales fué de un 9 % ($P < 0,02$).

Estos datos confirman resultados previos de que el esfuerzo físico aumenta la liberación de beta-END (Fraiola y col., 1.980; Colt y col., 1.981). Además, se ha estudiado cómo distintos niveles de esfuerzo y duración de pruebas atléticas afectan a la liberación de beta-END.

La pregunta fundamental respecto a este tema es ¿qué papel fisiológico tiene la beta-END circulante?. La beta-END tiene una distribución muy específica a nivel de SNC (ver introducción). Además, la beta-END es liberada por la hipófisis a la sangre. El papel de la beta-END a nivel del SNC parece ser la de neurotransmisor o neuromodulador (Gainer y col. 1.981). La función de la beta-END circulante parece ser distinta, sugiriéndose un papel hormonal (Morley, 1.981). No obstante, se ha sugerido que la beta-END circulante tiene acceso a determinadas estructuras o vías encefálicas (Gainer y col., 1.981). Esto implica, por tanto, que la beta-END circulante podría afectar el funcionamiento de determinadas estructuras del SNC. Concretamente, se ha sugerido que la beta-END periférica podría alterar la conducción de la sensación dolorosa a nivel del SNC (Bloom, 1.981).

Las acciones analgésicas de la beta-END son las más extensamente estudiadas. En 1.976, se demostró que la administración intraventricular de beta-END en ratas, era capaz de producir una analgesia muy superior a la causada por una dosis equimolecular de morfina (Loh, 1.976; citado por Clement-

Jones, 1.982). De igual forma la administración intravenosa de beta-END provoca en ratas una intensa analgesia (Tseng, 1.976). En el hombre, por el contrario, la administración endovenosa no provoca este efecto analgésico (Henry, 1.982), aunque la administración central (intratecal o intraventricular) de pequeñas dosis de beta-END producen en humanos una intensa analgesia que es, además, revertida por la naloxona (Hosobuchi y Li, 1.978; citados por Clement-Jones, 1.982; Oyama, 1.980/1.982; Yaksh, 1.982).

Se ha sugerido que los aumentos de beta-END encontrados tras el ejercicio físico están en relación directa con el esfuerzo realizado (Fraiolli y col., 1.980; Colt y col., 1.981). Igualmente, se ha sugerido la existencia de una relación directa entre la capacidad para modular el dolor y la distancia recorrida habitualmente (Metzger y col., 1.984). Durante el ejercicio, se acumulan varios compuestos catabólicos en músculos y sangre (Keele y col., 1.964; citado por Fraiolli y col., 1.980; Vecchiet y col., 1.973; Fraiolli y col., 1.980), fundamentalmente lactato. Cuando se alcanzan altos niveles de agotamiento muscular, estos catabolitos producen dolor, que es un estímulo para la liberación de beta-END. Este hecho podría explicar que el entrenamiento aumenta el umbral doloroso y la liberación de beta-END plasmática (Fraiolli y col., 1.980). En este estudio se han observado incrementos en las concentraciones de lactato de hasta un 385 % (tabla 6, gráfica 6). Estos resultados, por tanto, apoyan la hipótesis

sugerida por Fraioli y colaboradores (1.980), aunque desde un punto de vista puramente correlacional.

Otro aspecto fisiológico que está siendo intensamente estudiado en la actualidad, es el papel que la beta-END tiene en el control endocrino, fundamentalmente en los mecanismos de adaptación al stress (Amir y col., 1.980; Morley, 1.981).

Así se ha sugerido que las endorfinas ejercen una acción sobre la médula adrenal provocando la liberación de catecolaminas (Amir y col., 1.980). Por otro lado, la beta-END parece desempeñar un papel en el control del eje hipotálamo-hipofiso-suprarrenal (Gibson, 1.977) e incluso parece actuar sobre la liberación pancreática de glucagon (Ipp y col., 1.978) e hipofisaria de prolactina y hormona del crecimiento (Amir y col., 1.980). La beta-END interviene en la regulación de la secreción del PRL, GH y gonadotrofinas (Morley y col., 1.981; Williams, 1.981) suprimiendo la de LH (Williams, 1.981).

La administración de naltrexona, que inhibe la acción de la endorfina, causa una caída de los niveles basales de la PRL y GH y un aumento de LH (Williams, 1.981). No obstante, el aumento de PRL que sigue a la administración de un antagonista de la dopamina (haloperidol) no es bloqueado por la naltrexona, lo que sugiere una interacción de neuronas dopaminérgicas y endorfinérgicas (Williams, 1.981). Parece ser que las vías dopaminérgicas ejer-

cen efectos inhibitorios sobre la secreción de beta-END, controlando de este modo los efectos de este péptido sobre la secreción de PRL y GH (Williams, 1.981).

Se han descrito otros efectos inhibitorios de la beta-END sobre la TSH y gonadotrofinas. Estos efectos, sin embargo, no son efectivos cuando son aplicados directamente a la hipófisis, lo cual sugiere que deba ser activo solo a través del mecanismo GHRH (Williams, 1.981; Hompes y col., 1.982).

Finalmente, las neuronas neurohipofisarias son también estimuladas por las endorfinas. La bien conocida acción antidiurética de la morfina se debe a la liberación de V.P.. Este efecto puede ser obtenido también por la administración intraventricular de beta-END. Que las endorfinas puedan estar involucradas en la regulación de la liberación de V.P. está apoyado, además, por la observación de que la naloxona, desciende en algunos casos la secreción neurogénica inapropiada de ADH (Williams, 1.981).

En resumen, en base a los datos obtenidos en este trabajo y a la literatura disponible, es muy difícil interpretar el papel que la beta-END juega en el ejercicio físico. La observación de que la liberación de beta-END es proporcional a la duración del ejercicio físico sugiere, al menos, tres posibilidades. Primero, que la beta-END sea liberada en respuesta al stress sufrido por los atletas.

Esta secreción podría entenderse incluida dentro de los mecanismos de defensa del organismo ante situaciones stresantes. Con animales de experimentación se ha descrito que la beta-END se libera proporcionalmente al stress traumático al que se somete al animal (Mueller, 1.981). Por tanto, la beta-END se liberaría según el grado de stress padecido, con independencia de que el estímulo fuera el ejercicio físico, el trauma o cualquier otra situación stresante. Esta beta-END, podría alterar -disminuyendola- la percepción dolorosa, ya que la analgesia producida por la beta-END es el aspecto fisiológico mejor establecido (Tseng, 1.976; Henry, 1.982; Oyama, 1.980/1.982; Yaksh, 1.982).

La segunda posibilidad es que la beta-END jugara un papel en la respuesta endocrina del organismo al ejercicio físico. Aparte de la influencia de la beta-END sobre la secreción de determinadas hormonas y factores liberadores, este aspecto es el peor conocido de todos. Existen pocos trabajos respecto a la influencia de que la beta-END tiene sobre el metabolismo y el balance energético. Dichos trabajos sugieren que en el hombre, la beta-END puede alterar (aumentando) la conducta de ingesta de comida, así como que puede originar una reducción de las pérdidas energéticas, lo que conlleva un aumento de peso (Mandenoff y col., 1.982). No obstante, no hay ningún trabajo que haya estudiado a nivel celular los efectos metabólicos de la beta-END, siendo necesarios otros estudios que permitan aclarar este pro-

blema.

Finalmente, la beta-END circulante podría jugar un papel complementario, a un nivel no metabólico, al ACTH en la adaptación al stress. Desde antiguo, se conocen los efectos farmacológicos de la morfina, tanto a nivel central como periférico. Se conoce que la beta-END circulante puede estimular a los mismos receptores periféricos que la morfina (Snyder , 1.977). Por tanto la beta-END podría mediar parecidas respuestas vasculares y digestivas a las descritas para la morfina. Así, la beta-END podría causar la vasodilatación arteriolar y venosa periférica, descenso de la secreción ácida estomacal y disminución de la motilidad intestinal utilizando los mismos receptores que los ya conocidos para la morfina (Goodman y col., 1.980).

4.6.- EFECTO DE LAS DISTINTAS PRUEBAS ATLETICAS SOBRE LA LIBERACION DE ACTH

Se ha establecido que en el hombre, el ejercicio físico modifica los niveles periféricos de determinadas hormonas. Por ejemplo, el ejercicio prolongado origina un marcado incremento de la hormona de crecimiento, así como aumentos significativos en los niveles de catecolaminas, glucagon y cortisol (Galbo y col., 1.977; Gambert y col., 1.981). Recientemente se ha descrito que el ejercicio físico intenso también incrementa los niveles de ACTH circulan-

te (Fraiola y col., 1.980; Gambert y col., 1.981).

En la presente investigación se han estudiado los cambios en los niveles de ACTH circulante producidos por ejercicio físico, consistente en carreras de distinta distancia.

Tras realizar la prueba de media maratón el ACTH plasmático se incrementó en un 333 % ($P < 0,001$) (tabla 2, gráfica 2). Tras la prueba de fondo el incremento medio observado fué de un 63 % ($P < 0,05$). En medio fondo el incremento fué de un 426 % ($P < 0,01$) y tras la prueba de velocidad de un 80 % ($P < 0,02$). Como puede observarse, la realización del ejercicio elevó los niveles de ACTH circulante, aunque en este caso no parece existir una correlación entre los incrementos de ACTH y la distancia recorrida, como ocurría en el caso de la beta-END. Dado que la elevación de ACTH fué muy superior a la pérdida de agua plasmática, estos incrementos no pueden deberse a la pérdida de agua sufrida durante el ejercicio.

Aunque no se conoce como el ejercicio físico puede alterar los niveles de ACTH, actualmente se ha establecido que el control de la secreción de ACTH está mediado por tres mecanismos, además del ritmo circadiano. En primer lugar, un mecanismo de retroalimentación negativa ejercido por el mismo ACTH. Segundo, un circuito de retroalimentación negativa mediado por los glucocorticoides circulantes.

Finalmente, otro sistema de control en circuito abierto, más complejo y peor conocido. En este sistema, determinadas estructuras encefálicas actúan como sensores de las necesidades hormonales y energéticas del organismo. A través de las proyecciones de estas estructuras al hipotálamo, este último, mediante la liberación de CRF puede controlar la secreción del ACTH hipofisario. Es probable por tanto, que determinadas áreas cerebrales relacionadas con el stress puedan ejercer un control sobre el ACTH periférico.

La liberación de CRF es a su vez controlada por distintos neurotransmisores secretados por las aferencias que llegan al hipotálamo. Las influencias excitatorias son mediadas por la acetilcolina y la serotonina, mientras que las inhibidoras parecen ser noradrenérgicas (Martin y col., 1.977; Jones, 1.978). Por tanto, el stress neurogénico severo puede producir un bloqueo de la inhibición producida por los glucocorticoides, produciendo un incremento de los niveles circulantes de ACTH.

En contraste con la beta-END periférica, cuyo papel no se conoce exactamente, la función del ACTH circulante está bien establecida. Su función consiste fundamentalmente en aumentar los esteroides de la corteza suprarrenal. Adicionalmente este péptido va a mediar la adaptación del organismo a necesidades metabólicas extremas (Selye, 1.950; Engel y col., 1.966; Dessypris y col., 1.980). A través de la estimulación de la secreción de glucocorticoides

des (cortisol fundamentalmente), el ACTH va a modificar el metabolismo de los glúcidos. Los glucocorticoides están íntimamente relacionados con la capacidad del organismo para resistir el stress (Tortora y col., 1.982). El cortisol va a aumentar la gluconeogénesis hepática, además de tener otros efectos que van a ser, en general, opuestos a la insulina, incrementando la concentración de glucosa plasmática, así como asegurando que los tejidos tengan provisiones adecuadas para cubrir sus necesidades energéticas (Baxter y col., 1.972; Tortora y col., 1.982). El ACTH, al menos experimentalmente, va a producir una modificación de los lípidos almacenados en los tejidos (Lamb, 1.978). En síntesis, el ACTH por medio de mecanismos directos e indirectos, va a tener un papel importante en la regulación del metabolismo energético.

El estímulo mejor conocido para aumentar la liberación de ACTH es el stress, ya sea emocional, traumático, o de diverso origen (Dessypris y col., 1.980). Por tanto, los incrementos del ACTH observados se cree que son debidos al estímulo producido por el stress, producido por la práctica de todo ejercicio físico intenso.

Además de los efectos periféricos, el ACTH tiene otros efectos centrales totalmente independientes. Este péptido parece actuar como mediador -o modulador- en conductas motivadas y de adaptación (Nemeroff y col., 1.978; Krieger, 1.979b; Bohus,

1.979).

Un aspecto muy interesante es la posible secreción conjunta del ACTH y la beta-END. Ambos péptidos se originan a partir de un precursor común, la proopiomelanocortina (Nakanishi y col., 1.976; Mains y Eipper, 1.977/1.979) y se ha sugerido la posibilidad de que estos dos neuropéptidos se liberen simultáneamente (Vale y col., 1.981). No obstante, este punto está actualmente en discusión. Por un lado, se ha sugerido la posibilidad de que una neurona pueda liberar un solo péptido activo, aunque potencialmente pudiera liberar varios (Gainer y Brownstein 1.981). De esta forma, una célula ACTH-érgica liberaría solo ACTH, hidrolizando los demás péptidos originados a partir de la proteína precursora. Otros autores, sin embargo, apoyan la idea de que al menos en individuos sanos ACTH y beta-END se liberan conjuntamente (Vale y col., 1.981).

Sea como fuere, actualmente parece claro que la beta-END juega junto con el ACTH un papel importante en los mecanismos de adaptación al stress. No solo su síntesis, sino también su distribución y los mecanismos reguladores de su liberación parecen ser muy similares (Guillemin y col., 1.977; Amir y col., 1.980).

Las endorfinas y el ACTH pueden ejercer efectos opuestos mediante los mismos mecanismos receptores y funcionar como reguladores que medien la

conducta de adaptación durante el stress. El ACTH al igual que la endorfina posee afinidad por receptores opiáceos in vitro (Zimmerman y col., 1.973; Terenius, 1.975a/1.976; Gispen y col., 1.976). También se ha observado que la ACTH revierte la analgesia por morfina (Gispen y col., 1.975/1.976) así como diversas actividades conductuales inducidas por morfina en ratones y gatos (Zimmerman y col., 1.973; Krivoy y col., 1.974; Katz, 1.979). Estos hallazgos sugieren que el ACTH pueda tener también una acción como antagonista endógeno de los receptores opiáceos en el cerebro (Terenius, 1.975a y b; Wiegant y col. 1.977; Krivoy y col., 1.977). Así se han observado efectos opuestos de las endorfinas y ACTH sobre la excitabilidad neural (Rudman y col., 1.975; Wood y col., 1.978).

Es concebible que estos péptidos puedan tener acceso a estructuras cerebrales, bien a través del sistema vascular o del LCR (Oliver y col., 1.977; Pezalla y col., 1.978; Bergland y col., 1.978/1.979; Krieger y col., 1.979b; Verhoef y col., 1.979), o a través de estructuras desprovistas de BHE. La aparición de neuronas que contienen ACTH en el hipotálamo, tálamo, cerebro medio, amígdala y formación reticular (Watson y col., 1.977; Orwoll y col. 1.979; Pelletier y col., 1.979) sugiere la presencia de sistemas receptores en esos lugares para la ACTH (Amir y col., 1.980) lo que es un indicio del propuesto papel que el ACTH de origen central tiene en la motivación y alerta durante el stress (McKelvey,

1.978; Bohus, 1.979).

Todo lo anteriormente expuesto sugiere que los péptidos opiáceos y el ACTH juegan un papel en la respuesta global del organismo al stress. Adicionalmente, el sistema opiáceo endógeno podría servir para modular la reacción afectiva a los estímulos estresantes mientras que el ACTH podría estar relacionado en la percepción de esos estímulos y en la preparación metabólica para mediar la respuesta. Ya que las endorfinas y el ACTH parecen ser liberados desde la hipófisis simultáneamente en respuesta al stress, una acción coordinada de beta-END y ACTH podría mediar la adaptación psíquica y somática al ejercicio físico intenso.

En conclusión, los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que el ejercicio físico produce un aumento del ACTH circulante. Este aumento parece ser independiente de la distancia de la carrera y muy probablemente sea la causa de los incrementos observados en los niveles de glucosa circulante (ver siguiente apartado).

4.7.- EFEECTO DEL EJERCICIO SOBRE LOS PARAMETROS METABOLICOS

4.7.1.- SOBRE LA GLUCOSA PLASMATICA

Durante el ejercicio físico las necesi-

dades energéticas del musculo se van a incrementar dramáticamente. Estas necesidades energéticas van a ser cubiertas en principio por la hidrólisis del glucógeno muscular y por la glucosa circulante. Con el fin de mantener un aporte adecuado de glucosa, la glucogenólisis y la neoglucogénesis hepática se van a incrementar.

Con el fin de tener un índice de los cambios ocurridos en los niveles de glucosa durante el ejercicio, se determinaron sus niveles al finalizar las distintas pruebas físicas, (tabla 3, gráfica 3).

En media maraton no se observó ninguna variación significativa. En fondo, hubo un incremento de un 48 % ($P < 0,05$), en medio fondo, 92 % ($P < 0,001$) y en velocidad de un 31 % ($P < 0,02$). Hay que destacar que las muestras de sangre se tomaron al finalizar las distintas pruebas, por lo que estas concentraciones periféricas no reflejan los posibles cambios que se produjeran durante la realización del ejercicio, sino solo el estado final.

Estos aumentos pueden deberse a la secreción aumentada de ACTH, que a través de la liberación de cortisol podría aumentar la concentración de glucosa circulante, puesto que este esteroide es claramente hiperglucemiante (Ganong, 1.981). Los incrementos más altos de ACTH se encontraron en la prueba de medio fondo (426 %, tabla 2), e igualmente

los incrementos más altos de glucosa fueron encontrados en esta prueba (92 %, tabla 3). Los incrementos menos notorios fueron en las pruebas de fondo y velocidad en ambos casos. Solo en la carrera de media maratón no se encontraron aumentos significativos de glucosa a pesar de los altos incrementos de ACTH, lo que puede reflejar un agotamiento de las reservas hepáticas de glucógeno. Este hecho ha sido previamente descrito que ocurre en las pruebas de larga duración (Williams, 1.981). Los aumentos significativos observados en las otras pruebas reflejan la necesidad de aportar energía para el trabajo muscular. La elevación de glucosa es debida a la neoglucogénesis y la glucogenólisis hepática (Williams, 1.981), pero estos aumentos, como se han explicado anteriormente, no han sido observados tras ejercicios intensos y prolongados.

Los factores que originan el aumento de glucosa circulante en los deportistas son múltiples. Los individuos entrenados presentan una serie de características peculiares en cuanto a su metabolismo y endocrinología que pueden explicar esta observación. El entrenamiento favorece el consumo de ácidos grasos como combustible muscular, lo que origina un notable ahorro de glucógeno (Issekutz y col., 1.965; Mole y col., 1.971). Un reciente estudio (LeBlanc y col., 1.983) ha puesto de manifiesto el contraste existente entre individuos entrenados y sedentarios. Así, mientras que en personas no entrenadas no se encontraron cambios significativos en

los niveles de glucosa circulante al realizar ejercicio físico, en los deportistas se hallaron incrementos significativos de glucosa (LeBlanc y col., 1.983).

Entre los factores endocrinos hay que destacar el papel del ACTH y el cortisol, que ya han sido discutidos. Además de estas hormonas, la beta-END podría estar implicada también en estos cambios de glucosa circulante. Se ha descrito que la beta-END circulante aumenta la liberación de glucagón pancreático (Ipp y col., 1.978). Los niveles de glucagón pueden asimismo, ser aumentados por la secreción adrenérgica, que se encuentra elevada durante el ejercicio físico (Hartley y col., 1.972; Euler, 1.973). La beta-END también parece aumentar la liberación de catecolaminas en la médula adrenal (Amir y col., 1.980), que inhiben la liberación de insulina y estimulan la glucogenólisis hepática (Porte y col., 1.966; Shimazer y col., 1.968). El glucagón, que produce un fuerte incremento en la hidrólisis del glucógeno hepático, contribuye también a la elevación de glucosa plasmática (Kibler y col., 1.964). Sea cual fuere la sustancia mediadora, está bien establecido que el ejercicio físico produce un incremento en el glucagón circulante (Piehl y col., 1.974; Williams, 1.981).

En conclusión, los incrementos de ACTH y beta-END a través de mecanismos directos e indirectos, pueden ser la causa de los aumentos de glucosa

circulante. Esta respuesta hiperglucemiante originada por los dos neuropéptidos puede incluirse dentro de los mecanismos generales de adaptación al stress (Amir y col., 1.980).

4.7.2.- SOBRE LOS ACIDOS GRASOS LIBRES

Otros combustibles utilizados por el músculo, además de la glucosa, van a ser los ácidos grasos libres. La proporción entre los glúcidos y los lípidos utilizados por el músculo va a depender fundamentalmente de la duración e intensidad del ejercicio. También van a influir otros factores, como son el tipo de fibra muscular predominante (de contracción rápida o lenta) y el entrenamiento previo.

Los datos obtenidos en este trabajo muestran que la realización de las distintas pruebas físicas solo produjo pequeñas modificaciones en los niveles de ácidos grasos circulantes (tabla 4, gráfica 4). Solo hubo un descenso significativo de un 14 % ($P < 0,02$) en la prueba de fondo y un 21 % ($P < 0,01$) en la de medio fondo. En las demás pruebas, las alteraciones no fueron significativas.

El hecho de que no se modifiquen los ácidos grasos libres durante las pruebas de velocidad, se debe a que cuando el músculo realiza trabajos máximos de corta duración emplea fundamentalmente

glucogeno, que es degradado anaeróbicamente (Lamb, 1.978). Los descensos observados en las pruebas de medio fondo y de fondo pueden reflejar el aumento en el consumo de ácidos grasos que se produce en todo ejercicio físico duradero (Lamb, 1.978; Williams, 1.981). La observación de que los ácidos grasos libres no sufrieron cambios significativos tras la prueba de media maratón puede deberse a que en estas pruebas de larga duración se alcanza una especie de "estado de equilibrio" entre las grasas movilizadas y consumidas, con lo que al finalizar la prueba no se encuentran alteraciones en sus niveles.

4.7.3.- SOBRE EL LACTATO

Uno de los índices más importantes del tipo de metabolismo utilizado por el músculo, aeróbico o anaeróbico, es el ácido láctico. El ácido láctico va a producirse en el músculo como consecuencia del metabolismo anaeróbico, y puesto que este no puede metabolizarlo, va a pasar a la sangre. El hígado, a su vez, captura el lactato sanguíneo para metabolizarlo o para su utilización en la neoglucogénesis.

Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 6 y gráfica 6. En ellas puede observarse que en las pruebas cortas se produjeron fuertes incrementos significativos de lactato. Así, en velocidad se encontró un aumento de un 385 % ($P < 0,001$), de un 320% ($P < 0,02$) en medio fondo y de un 156% ($P < 0,01$) en la prueba de fondo. En media maratón solo hubo

un incremento no significativo de un 28 %. Estos datos pueden ser interpretados en base a las características metabólicas de la fibra muscular. En pruebas de máximo esfuerzo y duración corta toda la glucosa utilizada proviene del glucógeno muscular, que va a ser metabolizado anaeróbicamente hasta ácido láctico (Lamb, 1.978). Debido a que la vía anaeróbica es autolimitante puesto que puede producir descensos del pH y alteraciones metabólicas, en pruebas de mayor duración y esfuerzo submáximo, la vía anaeróbica va a perder importancia (Margaria, 1.979). Esto queda reflejado en los resultados expuestos en el presente trabajo, en los que puede observarse como al aumentar la distancia recorrida disminuye el lactato. Esto se debe también al tipo de fibra muscular implicada en cada ejercicio. En pruebas de resistencia son las fibras de contracción lenta las que realizan la mayor parte del trabajo. Estas fibras utilizan fundamentalmente la vía aeróbica para metabolizar los glúcidos y lípidos necesarios para liberar energía (Lamb, 1.978). En pruebas de larga longitud, los procesos oxidativos están funcionando totalmente para aportar la energía necesaria. Cuando se alcanza esta condición hay un estado de equilibrio entre el oxígeno captado y el consumido y el lactato o no se incrementa o desaparece (Margaria, 1.979).

Se ha sugerido que la beta-END podría liberarse en respuesta a determinados metabolitos que originan dolor corporal, con la finalidad de disminuir esta sensación dolorosa (Vecchiet y col.,

1.973). Los resultados aquí expuestos, no obstante, no permiten correlacionar los niveles de lactato con ninguno de los dos péptidos estudiados. Dicho de otra forma, el lactato no parece ser un factor desencadenante de la liberación de beta-END o ACTH.

4.8.- SOBRE LOS EFECTOS DIFERENCIALES DE UNA PRUEBA COMUN EN INDIVIDUOS ENTRENADOS Y NO ENTRENADOS

Puesto que el entrenamiento produce una serie de cambios metabólicos y hormonales, un aspecto importante de la presente investigación ha sido el comparar los efectos causados por el ejercicio físico en individuos entrenados y no entrenados. Actualmente está en discusión si el entrenamiento físico produce una facilitación en la liberación de beta-END, como ha sido propuesto por Carr y colaboradores (1.981) o si sucede lo contrario (Colt y col., 1.981).

Se eligió un grupo control formado por individuos comparables en todo a los atletas salvo que, eran sujetos de vida sedentaria. La prueba consistió en una carrera de 3.000 m. que fué realizada por todos en bloque. Ello implica que los atletas corrían al mismo ritmo que los no entrenados.

Los resultados obtenidos en la presente investigación muestran que los niveles de beta-END no se modificaron significativamente tras la rea-

lización de la prueba. También se compararon estadísticamente los niveles de beta-END de los controles respecto a los atletas, y se encontró que los niveles de beta-END eran significativamente más bajos ($P < 0,05$) en atletas que en controles al finalizar la prueba.

El ACTH, por otro lado, si se encontró incrementado significativamente ($P < 0,01$) en el grupo control al finalizar la prueba. Al comparar los niveles de ACTH después de la prueba, entre el grupo de atletas y controles, se halló un incremento significativo ($P < 0,01$) en el plasma de los controles.

Las concentraciones de ácidos grasos libres y de glucosa no se modificaron significativamente en ninguno de los dos grupos. El lactato, por el contrario, se encontró drásticamente aumentado en el grupo control al finalizar la prueba común. También el volumen plasmático sufrió un descenso significativo ($P < 0,01$) en el grupo control. Estos dos últimos parámetros son un índice del grado de esfuerzo que resultó la prueba común a los no entrenados, en tanto que no fué tal para los atletas. De hecho, los atletas confirmaron que esta prueba había sido de menor intensidad que los precalentamientos habitualmente realizados por ellos.

Con respecto al ACTH, los altos incrementos encontrados en el grupo control podría repre-

sentar una respuesta a la demanda energética del músculo no entrenado. Las personas no habituadas al ejercicio físico tienen menos glucógeno muscular (Lamb, 1.978), por lo que necesitan un mayor aporte de glucosa por la sangre. Esta glucosa puede ser movilizada por el cortisol, que es liberado por la acción de ACTH. El no incremento de los niveles de ACTH en los atletas posiblemente se deba a que la baja intensidad de la carrera no representó un esfuerzo significativo para estos individuos entrenados.

El fuerte incremento de los niveles de lactato en el grupo control confirma la falta de preparación de estos individuos. La clara insuficiencia del sistema cardio-circulatorio para aportar el oxígeno necesario se traduce en un fuerte incremento del metabolismo anaeróbico al realizar el ejercicio físico. Igualmente, el descenso considerable del volumen plasmático indica el esfuerzo realizado por estos individuos controles.

Desafortunadamente, los resultados obtenidos en esta prueba común no aclaran alguno de los problemas planteados antes de la realización del presente estudio. En primer lugar, no se ha observado que los niveles basales de los atletas sean superiores a aquéllos de los controles (Carr y col., 1.981). Tampoco se han encontrado las diferencias sugeridas por otros autores (ver Metzger y col., 1.984), en el sentido de que en reposo, los individuos entrenados tienen niveles más bajos de beta-END

que los no entrenados, aunque aún no existe ninguna explicación a esta hipótesis.

Más difícil de interpretar aún es el no aumento de beta-END tras la prueba común. En el grupo de atletas, esta observación puede explicarse por que para ellos este ejercicio fué de muy baja intensidad. También es importante destacar que los atletas que participaron en esta prueba estaban preparados para carreras de larga distancia (fondo y media maraton) por lo que una prueba corta y de muy bajo esfuerzo puede no representar un estímulo suficiente para liberar beta-END.

Otro punto importante es que en esta prueba se ha encontrado una disociación entre la liberación de beta-END y ACTH en individuos controles. Mientras que en las pruebas específicas todos los grupos de atletas tuvieron incrementos significativos de beta-END y ACTH, en esta prueba común no se observaron dichos incrementos. Esto se debe, muy probablemente, al bajo estímulo que para ellos representó la prueba, como se ha comentado anteriormente. Sin embargo, en los no entrenados, el ACTH se incrementó y la beta-END no. Esta prueba supuso para los controles un muy intenso ejercicio físico, o lo que es lo mismo, un gran stress. Por ello es difícil explicar, si se acepta que el esfuerzo físico es un estímulo para la liberación de beta-END, que ha ocurrido con el grupo control. La beta-END plasmática aumenta al realizar un ejercicio físico, tanto en

animales (Metzger y col., 1.984) como en el hombre (Fraoli y col., 1.980; Carr y col., 1.981; Colt y col., 1.981). No obstante, estos incrementos no ocurren en todos los individuos (aproximadamente un 30 % de los atletas que participaron en este estudio no modificaron sus niveles de beta-END). Finalmente, tampoco se observó ninguna facilitación de la secreción de beta-END, como se ha descrito previamente por un grupo de investigadores (Carr y col., 1.981).

En conclusión, la prueba común no ha supuesto un estímulo suficiente para incrementar los niveles de beta-END circulante, ni en el grupo control ni en el grupo de atletas. Solo se observaron incrementos significativos en el ACTH y en lactato en plasma del grupo control tras la realización del ejercicio físico.

4.9.- SOBRE LA ABSTINENCIA AL EJERCICIO FISICO

En algunos corredores que practican carreras de fondo por largo tiempo y diariamente, se ha descrito la aparición de un síndrome de abstinencia al suprimir bruscamente el ejercicio físico. En estas circunstancias aparecen síntomas de depresión, malestar, irritabilidad y necesidad de correr de nuevo tras un periodo variable de tiempo (días) en abstinencia al ejercicio. Se ha sugerido que esta sintomatología pudiera estar relacionada con los niveles plasmáticos de beta-END (Dienstbier y col.,

1.980; Markoff y col., 1.982). Esta relación entre los niveles de beta-END sérica y la abstinencia, implícitamente presupone la existencia de un acceso de este péptido al SNC, salvando la barrera hematoencefálica, para poder así ejercer su acción.

En el presente estudio se han analizado las variaciones de los niveles circulantes de beta-END y ACTH en atletas provenientes de los grupos experimentales A₁ y A₂ (media maraton y fondo respectivamente) a los 3, 6 y 9 días de suprimir brúscamente la práctica deportiva. Los resultados obtenidos ha puesto de manifiesto una variación en los niveles de beta-END, con un descenso estadísticamente significativo ($P < 0,01$) al tercer día de abstinencia. Los cambios observados en el ACTH fueron en todo paralelos a los de beta-END (ver gráfica 21) salvo que el descenso del tercer día no fué estadísticamente significativo.

Además de las determinaciones bioquímicas, se evaluó el estado anímico de los atletas mediante el test psicológico "POMS". Con este test solo se pretendía tener una referencia sobre la posibilidad de que la beta-END pudiera estar correlacionada con la depresión y falta de vigor observadas durante la abstinencia al ejercicio. Los parámetros psicológicos examinados fueron el vigor, fatiga, tensión, confusión, depresión y hostilidad (gráfica 22). Así mismo con el fin de comparar los cambios en el estado anímico observados en los atletas con aquéllos

que ocurren en personas normales, un grupo control fué sometido al mismo test. Este grupo control estaba formado por individuos en todo comparable a los atletas, aunque no se encontraban en ningún periodo de abstinencia.

Como puede observarse comparando la gráfica 21 con la gráfica 22, el vigor sigue una evolución similar a la beta-END, es decir, ambas descienden y aumentan simultáneamente. Los otros parámetros que podrían llamarse negativos, como son la depresión, fatiga, tensión y hostilidad siguen una evolución opuesta a la beta-END. Sin embargo, debido a que en el grupo control también se observaron oscilaciones, aunque no tan acentuadas, se hace difícil extraer conclusiones.

Estudios previos, mediante el test POMS, han destacado la euforia y la influencia antidepresiva originada por la práctica del ejercicio físico (Goldstein, 1.976; Markoff y col., 1.982). Estos últimos autores trataron de hacer desaparecer la euforia mediante la administración de naloxona (un antagonista opiáceo) sin conseguirlo. A su juicio, la beta-END no estaba relacionada con estos efectos antidepresivos producidos por el deporte. No obstante, esta interpretación puede ser criticada en varios aspectos. En primer lugar, un test psicológico tiene un valor limitado si no es realizado en unas condiciones muy estrictas y por personal experto. En segundo lugar, la naloxona, como los demás antagonistas

opiáceos, pudiera no bloquear a todos los distintos subtipos de receptores opiáceos, con lo que podría suprimir unos efectos sin alterar otros. Igualmente, debería aclararse primero si la beta-END periférica tiene o no acceso a las estructuras encefálicas relacionadas con el estado anímico.

Dado el estado preliminar de las investigaciones actuales en relación con la beta-END y los problemas anteriormente expuestos, es muy difícil extraer conclusiones. No obstante, puede afirmarse que en base a los resultados obtenidos, no es posible correlacionar los niveles de beta-END y ACTH con los síntomas mostrados por los atletas al suprimir brúscamente la práctica deportiva.

4.10.- ESTUDIO DE LA CORRELACION EXISTENTE ENTRE BETA-END Y ACTH CIRCULANTES

Desde que se descubrió que beta-END, ACTH y beta-LPH tiene un precursor común (Mains y col., 1.977; Wardlaw y col., 1.979 ; Nakao y col., 1.979) se sugirió que estos tres péptidos se liberan simultáneamente a la sangre (Amir, 1.980; Williams, 1.981; Colt y col., 1.981). Además el ejercicio físico parece ser un estímulo adecuado para su liberación (Fraiolli y col., 1.980; Mueller, 1.981; Colt y col., 1.981; Carr y col., 1.981; Elliot y col., 1.984). Con objeto de comprobar si esto ocurría en las pruebas físicas realizadas en este estudio, se compara-

ron estadísticamente las concentraciones de beta-END frente a las de ACTH.

En primer lugar se analizó la correlación existente entre ambos péptidos en cada prueba específica, mediante regresión lineal. Los datos obtenidos (que no se muestran en el apartado de resultados) no establecieron ninguna correlación significativa entre beta-END y ACTH debido al bajo número de individuos utilizados en cada grupo. Sin embargo, al comparar los valores de beta-END y ACTH de todos los individuos, se encontró una correlación altamente significativa ($P < 0,001$) entre los niveles de estos dos péptidos, tanto en condiciones basales (gráfica 23), como tras la ejecución de la prueba física (gráfica 24).

Los resultados aquí discutidos, por tanto, apoyan la hipótesis de que la beta-END y el ACTH se liberan conjuntamente, de acuerdo con otros autores (Fraiola y col, 1.980; Carr y col., 1.981). Como ha sido explicado en la introducción, la biosíntesis de estos péptidos parte de una sola prohormona de gran peso molecular, que se activa por segmentación proteolítica para producir beta-END, ACTH, beta-LPH, MSH y otros péptidos. No obstante, actualmente está en discusión si una determinada célula puede secretar más de un péptido partiendo de un mismo precursor (Gainer y Brownstein, 1.981) puesto que se ha comprobado que distintas células pueden secretar péptidos diferentes a partir de un mismo precursor, mediante

una hidrólisis proteolítica posterior a la traslación (Hughes, 1.980).

Con independencia de si las células secretoras son las mismas o no, el ejercicio físico ha sido un estímulo eficaz para causar la liberación de beta-END y ACTH en concentraciones que pueden correlacionarse. Solo en el caso de la prueba común, en individuos no entrenados no hubo aumentos simultáneos de ACTH y beta-END, por lo que son necesarios otros estudios que profundicen en las posibles diferencias existentes en la secreción de beta-END en individuos entrenados y no entrenados.

En resumen, los resultados obtenidos muestran que en personas entrenadas existe una correlación entre los niveles de beta-END y ACTH tanto en condiciones basales como tras la realización de la prueba física.



5.- CONCLUSIONES

- 1.- En atletas, la concentración de beta-END circulante al finalizar las pruebas es proporcional a la distancia recorrida. Estos incrementos no son debidos a la deshidratación sufrida por los atletas.
- 2.- En individuos entrenados, la práctica deportiva incrementa la concentración de ACTH circulante. Estos incrementos no son proporcionales a la duración del ejercicio y no están ligados a la deshidratación.
- 3.- Las concentraciones basales de beta-END son iguales en individuos entrenados y no entrenados.
- 4.- Las concentraciones de lactato circulante son mayores al finalizar pruebas físicas de gran intensidad y corta duración que en las pruebas de larga distancia (media maraton y fondo).
- 5.- En base a los resultados obtenidos, no es posible correlacionar los niveles de beta-END y ACTH con los síntomas mostrados por los atletas al suprimir brúscamente la práctica deportiva.
- 6.- En personas entrenadas existe una correlación entre los niveles de beta-END y ACTH altamente significativa, tanto en condiciones basales como tras la realización de las pruebas físicas.



6.- BIBLIOGRAFIA

- Adolph, E.F. "Physiology of man in the desert". New York: Interscience, Fig. 10-2. 1.947.
- Akil, H.; Watson, S.J.; Barchas, J.D. y col. "Beta-endorphin immunoreactivity in rat and human blood: radioimmunoassay, comparative levels and physiological alterations". Life Sci., 24: 1.659-1.666. 1.979.
- Amir, S.; Brown, Z.W. y Amit, Z. "The role of endorphins in stress: evidence and speculations". Neurosci. Behav. Rev., 4: 77-86. 1.980.
- Anderson, T.R. y Slotkin, T.A. "The role of neural input in the effects of morphine of the rat adrenal medulla". Biochem. Pharmac., 25: 1.071-1.074. 1.976.
- Andersson, B.; Leksell, L.G. y col. "Perturbations in fluid balance induced by medially placed fore-brain lesions". Brain. Res., 99: 261. 1.975.
- Anhut, H.; Knepel, W.; Nutto, D. y col. "Vasopressin stimulates released of beta-lipotropin and beta-endorphin in conscions rats asmeasured by radioimmunoassay of unextracted plasma". Arch. Pharmac., 316: 58-63. 1.981.

- Banister, E.W., Griffiths, J. "Blood levels of adrenergic amines during exercise". J. Appl. Physiol., 33: 647-676. 1.972.
- Barchas, J.D.; Akil, H.; Elliot, G.R. y col. "Behavioral neurochemistry: neuroregulators and behavioral state". Science., 200: 964-973. 1.978.
- Baxter, J.D. y Forsham, P.H. "Tissue effects of glucocorticoids". Am. J. Med., 53: 573. 1.972.
- Beakeland, F. "Exercise deprivation: sleep and psychological reactions". Arch. Gen. Psychiat., 22: 365. 1.970.
- Bergland, R.M. y Page, R.B. "Can the pituitary secrete directly to the brain? (Affirmative anatomical evidence)". Endocrinology, 102: 1.325-1.338. 1.978.
- Bergland, R.M. y Page, R.B. "Pituitary-brain vascular relations: a new paradigm". Science, 204: 18-24. 1.979.
- Bertagna, X.Y.; Nicholson, W.E.; Sorenson, G.D. y col. "Corticotropin, lipotropin and beta-endorphin production by and human nonpituitary tumor in culture: evidence for a common precursor". Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 75: 5.160-5.164. 1.978.

- Berson, S.A. y Yallow, R.S. "Radioimmunoassay of ACTH in plasma". J. Clin. Invest., 47: 2.725. 1.968.
- Berson, S.A. y Yallow, R.S. (eds.) "Peptide Hormones". En: "Methods in Investigative and Diagnostic", Vol. 2. Endocrinology, Nueva York, American Elsevier Pu. Co. Inc., 1.973.
- Bloom, F.E.; Battenberg, E.; Rossier, J. y col. "Neurons containing beta-endorphin in rat brain exits separately from these containing enkephalin: immunocytochemical study". Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 75: 1.951-1.955. 1.978.
- Bloom, F.E. "Neuropéptidos". Investigación y Ciencia, Nº 63. 1.981.
- Bohus, B. "Effects of ACTH-like neuropeptides on animal behavior and man". Pharmacology, 18: 113-122. 1.979.
- Bowen, W.D.; Gentleman, S.; Herkenham, M.; Pert, C.B. "Interconverting mu and delta forms of the opiate receptor in rat striatal patches". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78: 4.818-22. 1.981.
- Bradbury, A.F.; Smyth, D.G.; Snell, C.R.; Birdsall, N.J.M. y Hulme, E.C. "C-fragment of lipotropin has a high affinity for brain opiate receptors". Nature, 260: 793-795. 1.976.

- Brundin, T. y Cernigliaro, C. "The effect of physical training on the sympathoadrenal response to exercise". Scand. Laborat. Invest., 35: 525-530. 1.975.
- Bruni, J.F.; Watkins, W.B. y Yen, S.S.C. "Beta-endorphin in the human pancreas". J. Clin. Endoc. Metab., 49: 649-651. 1.979.
- Carr, D.B.; Bullen, B.A.; Skrinar, G.S. y col. "Physical conditioning facilitates the exercise-induced secretion of beta-endorphin and beta-lipotropin in women". N. Eng. J. Med., 305: 560-563. 1.981.
- Chang, K.J.; Cooper, B.R.; Hazum, E. y Cuatrecasas, P. "Multiple opiate receptors: different regional distribution in the brain and differential binding of opiates and opioid peptides". Molec. Pharmac., 16: 91-104. 1.979.
- Chang, K.J.; Hazum, E. Cuatrecasas, P. "Multiple opiate receptors". Trends. Neurosci., 3: 160-162. 1.980.
- Chang, K.J. y Cuatrecasas, P. "Heterogeneity and properties of opiate receptors". Fed. Proceed., 40: 2.729-34. 1.981.
- Chavkin, C.; James, I.F. y Goldstein, A. "Dynorphin is a specific endogenous ligand of the kappa opioid receptor". Science, 22; 215: 413-415. 1.982.

- Cheung, A.L. y Goldstein, A. "Failure of hypophysectomy to alter brain content opioid peptides (endorphins)". Life Sci., 19: 1.005-1.008. 1.976.
- Ciscar, R.F. y Farreras, V.P. "Diagnostico Hematológico, Laboratorio y Clínica". Ed. Jims., 2: 1.342-1.353. 1.972.
- Clement-Jones, V.; McLoughlin, L.; Lowry, P.J. y col. "Acupuncture in heroin addicts: changes in met-enkephalin and beta-endorphin in blood and cerebrospinal fluid". Lancet, 2: 380-383. 1.979.
- Clement-Jones, V. and Rees, L.H. "Neuroendocrine correlates of the endorphins and enkephalins". En: Clinical neuroendocrinology, Vol. II, 139-203. G.M. Besser y L. Martini (eds.). 1.982.
- Colt, E.W.D.; Wardlaw, S.L. y Frantz, A.G. "The effect of running on plasma beta-endorphin". Life Sci., 28: 1.637-1.640. 1.981.
- Cooper, P.E.; Martin, J.B. "Neuroendocrinology and brain peptides". Trends Neurosci., 186. 1.982.
- Cox, B.M.; Opheim, K.E.; Teschemacher, H. y col. "A peptide-like substance from pituitary that acts like morphine. 2. Purification and properties". Life. Sci., 16 (12): 1.777-82. 1.975.
- Cox, B.M.; Gentleman, S.; Su, T.P. y Goldstein, A. "Further characterization of morphine-like peptides (endorphins) from pituitary". Brain Res., 115(2): 285-96. 1.976.

- Creese, I. y Snyder, S.H. "Receptor binding and pharmacological activity of opiates in the guinea-pig intestine". J. Pharmacol. Exp. Ther., 194 (1): 205-19. 1.975.

- Crine, P.; Benjannet, S.; Seidah, N.G. y col. "In vitro biosynthesis of beta-endorphin, gamma-lipotropin and beta-lipotropin by the pars intermedia of beef pituitary glands". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74: 4.276-4.280. 1.977.

- Crine, P.; Gianoulakis, C.; Seidah, N.G. y col. "Biosynthesis of beta-endorphin from beta-lipotropin and a larger molecular weight precursor in rat pars intermedia". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75: 4.719-4.723. 1.978.

- Csontos, K.; Rust, M.; Holtt, V. y col. "Elevated plasma beta-endorphin levels in pregnant women and their neomates". Life Sci., 25: 835-844. 1.979.

- Dent, R.R.; Guilleminault, G.; Albert, L.H. y col. "Diurnal rhytm of plasma immunoreactive beta-endorphin and its relationship to sleep stages and plasma rhytms of cortisol and prolactin". J. Clin. Endocrinol. Metab., 52: 942-947. 1.981.

- Dessypris, A.; Wägar, G.; Fyhrmist, F. y col. "Marathon run: effects on blood cortisol-ACTH, iodothyronines-TSH and vasopressin". Acta Endocrinol., 95: 151-157. 1.980.

- Dienstbier, R.A.; Crabbe, J.; Johnson, G.O. ; Tholander, W. y col. "Psychophysiology of running". M. Sachs y M. Sacks (eds.). Human Kinetics Press, Champaign, I ll. 1.980.
- Dill, D.B.; Horvath, S.M.; Beaumont, W.V.; Gehlsen, G. y col. "Sweat electrolytes in desert walks". J. Appl. Physiol., 23: 746-751. 1.967.
- Dill, D.B. y Costill, D.L. "Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration". J. Appl. Physiol., 37: 247-248. 1.974.
- Dumas, B.T. "Standards for total serum protein assays - a collaborative study". Clin. Chem., 21: 1.159. 1.975.
- Duncombe, W.G. Clin. Chim. Acta, 9: 122. 1.964.
- Eipper, B.A.; Mains, R.E. y Guenzi, D. "High molecular weight forms of adrenocorticotropic hormone are glycoproteins". J. Biol. Chem , 251: 4.121. 1.976.
- Elliot, D.L.; Goldberg, L.; Watts, W.J. y col. "Resistance exercise and plasma beta-endorphin/beta-lipotrophin immunoreactivity". Life Sci., 34: 515-518. 1.984.

- Engel, F.L. y Liebovitz, H.E. "Extra target organ actions of anterior pituitary hormones". En: "The Pituitary Gland", Vol. 2, edited by G.W. Harris y D.T. Donovan. London: Butterworths, pp. 563-588. 1.966.
- Euler, U. S. von. "Sympatho-adrenal activity in physical exercise". Med. Sci. Sports, 6: 165-173. 1.973.
- Fachinetti, F.; Bagnoli, F.; Bracci, R. y col. "Plasma opioids in the first hours of life". Brain Res., 16: 93-98. 1.982.
- Fishman, R.A. "Cerebrospinal fluid in diseases of the nervous system". W.B. Saunders Company (ed.) 1.980.
- Fletcher, J.E.; Thomas, F.A. y Hill, R.G. "Beta-endorphin and parturition". Lancet, 1: 310. 1.980.
- Fraioli, F.; Moretti, C.; Paolucci, D. y col. "Physical exercise stimulates marked concomitant release of beta-endorphin and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) in peripheral blood in man". Experientia, 36: 987-989. 1.980.
- Frederickson, R.C.A. y Geary, L.E. "Endogenous opioids peptides: Review of physiological, pharmacological and clinical aspects". Progress Neurobiol., 19: 16-69. 1.982.

- Gainer, H. Brownstein, M.J. "Neuropeptides". En: "Basic Neurochemistry", G.J. Siegel, R.W. Albers, B.W. Agranoff y R.Katzman, Editores. Little, Brown and Co., Boston, pp. 269-296. 1.981.
- Galbo, H.; Holst, J.J. y Christensen, N.J. "Glucagon and plasma catecholamine responses to graded and prolonged exercise in man". J. Appl. Physiol. 38: 70-76. 1.975.
- Galbo, H.; Richter, E.A.; Hilsted, J.; Holst, J.J.; Christensen, N.J. y Henriksson, J. "Hormonal regulation during prolonged exercise". Ann. NY. Acad. Sci., 301: 72-80. 1.977.
- Gambert, S.R.; Garthwaite, T.L.; Pontzer, C.H. y col. "Running elevates plasma beta-endorphin immunoreactivity and ACTH in untrained human subjects (41225)". Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 168: 1-4. 1.981.
- Ganong, W.F. "Review of medical physiology". Lange Medical Publications. 1.981.
- Gerner, R.H. y Sharp, B. "CSF beta-endorphin-immunoreactivity in normal, schizophrenic, depressed, manic and anorexic subjects". Brain Res., 237: 244-247. 1.982.

- Ghazarrosian, V.E.; Dent, R.R.; Otsu, K. y col. "Development and validation of a sensitive radioimmunoassay for naturally occurring beta-endorphin-like peptides in human plasma". Anal. Biochem. 102: 80-89. 1.980.
- Gibson, A.; Ginsburg, M.; Hall, M. y col. "The influence of naloxone and normorphine on plasma corticosteroid levels in normal and stressed mice". J. Physiol., 270: 28-29. 1.977.
- Gilbert, P.E. y Martin, W.R. "The effects of morphine and nalorphine-like drugs in the nondependent, morphine-dependent and cyclazocine-dependent chronic spinal dog". J. Pharmac. exp. ther., 198: 66-82. 1.976.
- Gispen, W.H.; Van Wimersma Greidanus, T.B.; Waters-Ezrin, C. y col. "Influence of peptides on reduced response of rats to electric foot shock after acute administration of morphine". Eur. J. Pharmac., 33: 99-105. 1.975.
- Gispen, W.H.; Buitelaar, J.; Wiegant, V.M. y col. "Interaction between ACTH fragments, brain opiate receptors and morphine-induced analgesia". Eur. J. Pharmac., 39: 393-397. 1.976.
- Goldstein, A. "A opioid peptides (endorphins) in pituitary and brain". Science, 193: 1.081. 1.976.

- Gramsch, C.; Holt, V.; Mehracin, P. y col. "Regional distribution of methionine-enkephalin and beta-endorphin-like immunoreactivity in human brain and pituitary". Brain Res., 171: 261-270. 1.979.
- Guillemin, R.; Ling, N. y Burgus, R. "Endorphines, peptides d'origine hypothalamique et neurohypophysaire a activité morphinomimetique. Isolement et structure moléculaire d' α -endorphine". C.R. Hebd. Acad. Sci. Paris Série D, 282: 783-785. 1.976.
- Guillemin, R.; Vargo, T.; Rossier, J. y col. "Beta-endorphin and ACTH are secreted concomitantly by the pituitary gland". Science, 197: 1.367-1.369. 1.977.
- Guillemin, R. "Beta-lipotropin and endorphins: implications of current knowledge". En: "Neuroendocrinology", cap. 7. D.T. Krieger, J.C. Hughes, (eds.). Sinauer Ass. Sunderland. 1.980.
- Guyton, A.C. "Textbook of Medical Physiology". W.B. Sannders Company, Philadelphia. 1.976.
- Hartley, L.H.; Mason, J.W.; Hogan, R.P.; Jones, L.G.; Kotchen, T.A. y col. "Multiple hormonal responses to graded exercise in relation to physical training". J. Appl. Phisiol., 33: 602-606. 1.972.

- Hartley, L.H. "Growth hormone and catecholamine response to exercise in relation to physical training". Med. Sci. Sports, 7: 34-36. 1.975.
- Henry, J.L. "Circulating opioids: possible physiological roles in central nervous function". Neurosci. Biobehav. Rev., 6: 229-245. 1.982.
- Herz, A. "Endorphine und das schmerzgeschehen". Schweiz. Med. Wschr., 111: 1.937-1.941. 1.981.
- Hoffman, K. "Relations Between chemical structure and function of adrenocorticotropin and melanocyte-stimulating hormones". En: "Handbook of Physiology" Sección 7: Endocrinology, Vol. IV, American Physiological Society, Baltimore, Williams and Wilkins, pp. 29-58. 1.974.
- Hökfelt, T.; Johanson, O.; Ljungdahl, A. y col. "Peptidergic neurons". Nature, 248: 515-521. 1.980.
- Holtt, V.; Przewlocki, R. y Herz, A. "Beta-endorphin-like immunoreactive in plasma pituitary and hypothalamus of rats following treatment with opiates". Life Sci., 23: 1.057-1.066. 1.978.
- Holtt, V.; Müller, O.A. y Fahlbosch, R. "Beta-endorphin in human plasma basal and pathologically elevated levels". Life Sci., 25: 37-44. 1.979.

- Hompes, P.G.A.; Vermes, I.; Tilders, F.J.H. y Schoemaker, J. "Possible role of beta-endorphin in the control of LHRH secretion during prepubertal development of female rats". Excerpta Medica, 31 p. 1.982.
- Hughes, J. "Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine". Brain Res., 88: 295-308. 1.975.
- Hughes, J.; Smith, T.; Morgan, B. y col. "Purification and properties of enkephalin-the possible endogenous ligand for the morphine receptor". Life Sci., 16: 1.753-1.758. 1.975a.
- Hughes, J.; Smith, T.; Kosterlitz, H.W.; Fothergill, L.; Morgan, B. and Morris, H. "Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity". Nature (Lond.), 258: 577-579. 1.975b.
- Hughes, J.; Beaumont, A.; Fuentes, J.A. y col. "Opioid peptides: Aspects of their origin, release and metabolism". J. Exp. Biol., 89: 239-255. 1.980.
- Ipp, E.; Dobbs, R. and Unger, R.H. "Morphin and beta-endorphin influence the secretion of the endocrine pancreas". Nature, 276: 190-191. 1.978.

- Issekutz, B. Jr.; Miller, H.I.; Paul, P. y col. "Aerobic work capacity and plasma FFA turnover". J. Appl. Physiol., 20: 293-298. 1.965.
- Jackson, I.M.D. "Neural peptides in cerebrospinal fluid". Adv. Biochem. Psychopharmacol., 28: 335-337. 1.980.
- Jacobowitz, D.M. y O'Donahue, T.C. "Alfa-melanocyte stimulatins hormone: immunohistochemical identification and mapping of neurons in rat brain". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75: 6.300-6.304. 1.978.
- Jeffcoate, W.J.L.; McLoughlin, L.; Hope, J. y col. "Beta-endorphin in human cerebrospinal fluid". Lancet, 2: 119-121. 1.978.
- Jones, M.T. "Control of corticotrophin (ACTH) secretion". En: The Endocrine Hypothalamus, Jeffcoate, S.L. y Hutchinson, J.S.M. (eds.), Nueva York, Academic Press, pp. 386-420. 1.978.
- Katz, R.J. "ACTH₄₋₁₀ antagonism of morphine-induced behavioral activation in the mouse". Eur. J. Pharmac., 53: 393-395. 1.979.
- Kendall, J.W.; Orwoll, E. y Gaudete, D. "Extrapi-tuitary ACTH/beta-END in tissues of APUD series". Program 6th Int. Congress Endocrin.: 528. 1.980.

- Kibler, R.F.; Taylor, W.J. y Myers, J.D. "Effect of glucagon on net splanchnic balance of glucose, amino acid nitrogen, urea, ketone and oxygen in man". J. Clin. Invest., 43: 904-910. 1.964.
- Kita, T.; Inona, A.; Nakanishi, S. y col. "Purification and characterisation of the messenger RNA coding for bovine corticotropin/beta-lipotropin precursor". Eur. J. Biochem., 93: 213-220. 1.979.
- Koob, G.F.; Bloom, F.E. "Behavioural effects of opioid peptides". Br. Med. Bull., 39: 89-94. 1.983.
- Kosterlitz, H.W. y Paterson, S.J. "Characterization of opioid receptors in nervous tissue". Proc. R. Soc. Lond. B., 210: 113-122. 1.980.
- Krieger, D.T.; Allen, W.; Rizzo, F. y col. "Characterization of the normal temporal pattern of plasma corticosteroid levels". J. Clin. Endocrinol. Metab., 32: 266-84. 1.971.
- Krieger, D.T. y Ganong, W.F. (eds.). "ACTH and related peptides". Ann. N.Y. Acad. Sci., 297. 1.977a.
- Krieger, D.T.; Liotta, A. y Li, C.H. "Human plasma immunoreactive beta-lipotropin: correlation with basal and stimulated plasma ACTH concentrations". Life Sci., 21 1.771-1.778. 1.977b.

- Krieger, D.T.; Liotta, A.; Nicholson, G. y col. "Brain ACTH and endorphin reduced in rats with monosodium glutamate induced nuclear lesions". Nature, 278: 562-663. 1.979.
- Krieger, D.T.; Liotta, A.S.; Suda, T. y col. "Human plasma immunoreactive lipotropin and adrenocorticotropin in normal subjects and in patients with pituitary-adrenal disease". J. Clin. Endocrinol. Metab., 48: 566-71. 1.979a.
- Krieger, D.T. y Liotta, A.S. "Pituitary hormones in brain: Where, how and why". Science, 205: 366-372. 1.979b.
- Krieger, D.T.; Liotta, A.S.; Brownstein, M.J. y col. "ACTH, beta-lipotropin and related peptides in brain pituitary and blood". En: "Recent progress in hormonal Research"., 36: 277-336. 1.980.
- Krieger, D.T.; Yamaguchi, H. y Liotta, A.S. "Human plasma ACTH, lipotropin and endorphin". En: "Neurosecretion and Brain Peptides", J.B.Martín; S.Reichlin and K.L. Bick (eds.). pp. 541-556. 1.981.
- Krivoy, W.; Kroeger, D.; Taylor, A. y col. "Antagonism of morphine by b-melanocyte stimulating hormone and by tetracosactin". Eur. J. Pharmac., 27: 339-345. 1.974.

- Krivoy, W.A.; Kroeger, D.C. y Zimmermann, E. "Neuropeptides: influence on acute and chronic effects of opiates". Psychoneuroendocrinology, 2: 43-51. 1.977.
- La Bella, F.; Queen, J.; Senyshin, M. y col. "Lipotropin: localization by radioimmunoassay of endorphin precursor in pituitary and brain". Biochem. Biophys. Res. Commun., 75: 350-357. 1.977.
- Lamb, D.R. "Physiology of exercise. Responses and adaptations". MacMillan Pu. Co., New York. 1.978.
- Laorden, M.L.; Miralles, F.; Olaso, M.J. y col. "Determinación de endorfinas en LCR humano. Estudio comparativo en distintos grupos de pacientes". Rev. Esp. Fisiol., 38: 288-284. 1.982.
- Larsson, L.I. "Corticotropin-like peptides in central nerves and in endocrine cells of gut and pancreas". Lancett, 2: 1.321-1.323. 1.977.
- LeBlanc, J.; Tremblay, A.; Richard, D. y col. "Daily variations of Plasma Glucose and Insulin in Physically-Trained and Sedentary Subjects". Metabolism, 32: 552-557. 1.983.
- Levin, E.R.; Sharp, B.; Meyer, N. y col. "Morphine and naloxone: effects on beta-endorphin immunoreactivity in canine plasma and secretions from rat pituitaries". Endocrinology, 109: 146-151. 1.981.

- Li, C.H. y Chung, D. "Isolation and structure of an untriakontapeptide de with opiate activity from camel pituitary glands". Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73: 1.145-1.148. 1.976.
- Ling, N. y Guillemin, R. "Morphinomimetic activity of synthetic fragments of beta-lipotropin and analogs". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73: 3.308-3.310. 1.976.
- Liotta, A. S.; Suda, T. y Krieger, D.T. "Beta-lipotropin is the major opioid-like of human pituitary and rat pars distalis: lack of significant beta-endorphin". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75: 2.950-2.954. 1.978a.
- Liotta, A.S.; Li, C.H.; Schussler, G.L. y col. "Comparative metabolic clearance rate, volume of distribution and plasma half-life of human beta-lipotropin and of ACTH". Life Sci., 23: 2.323-2.330 1.978b.
- Liotta, A.S.; Gildersleeve, D.; Brownstein, M.J. y col. "Biosynthesis in vitro of immunoreactive 31.000 dalton corticotropin, beta-endorphin-like materials by bovine hypothalamus". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 1.448-1.452. 1.979.

- Liotta, A.S. y Krieger, D.T. "In vitro biosynthesis and comparative post-translational processing of immunoreactive precursor corticotropin-beta-endorphin by human placenta and pituitary cells". Endocrinology, 106: 1.504-1.511. 1.980.
- Liotta, A.S.; Loudes, C.; McKelvy, J.F. y Krieger, D.T. "Biosynthesis of precursor corticotropin/endorphin, corticotropin, α -melanotropin, β -lipotropin and β -endorphine-like material by cultured neonatal rat hypothalamic neurons". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 1.880-1.884. 1.980.
- Loh, Y.F. "Immunological evidence for two common precursor to corticotropins, endorphins and melanotropin in the neurointermediate lobe of the pituitary". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 796-800. 1.979.
- López-López, J.A. "Beta-endorfina y cirugía talámica del dolor". Tesis doctoral, Enero, 1.983.
- Lord, J.A.H.; Waterfield, A.A.; Hughes, J. y Kosterlitz, H.W. "Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors". Nature, (Lond), 267: 495-499. 1.977.
- Mains, R.E. y Eipper, B.A. "Biosynthesis of adrenocorticotropic hormone in mouse pituitary tumor cells". J. Biol. Chem., 251: 4.115. 1.976.

- Mains, R.E.; Eipper, B.A. y Ling, N. "Common precursor to corticotropin and endorphins". Proc. Natl Acad. Sci. USA, 74: 3.014-3.018. 1.977.
- Mains, R.E. y Eipper, B.A. "Synthesis and secretion of corticotropins, melanotropins and endorphins by rat intermediate pituitary cells". J. Biol. Chem., 254: 7.885-7.894. 1.979.
- Malarkey, W.B. "Recently discovered hypothalamic-pituitary hormones". Clin. Chem., 22: 5-15. 1.976.
- Mandenoff, A.; Fumeron, F. y Apfelbaum, M. "Endogenous Opiates and Energy Balance". Scienc, 215: 1.536-1.537. 1.982.
- Margaria, R. "Biomechanics and energetics of muscular exercise". Clarendon Press, Oxford. 1.979.
- Markoff, R.A.; Ryan, P. y Young, T. "Endorphins and mood changes in long distance running". Med. Sci. Sports Exercise, 14: 11. 1.982.
- Martin, W.R.; Eades, C.G.; Thompson, J.A. y col. "The effects of morphine and nalorphine-like drugs in the non-dependent chronic spinal dog". J. Pharmac. exp. Ther., 197: 517-532. 1.976.
- Martin, J.; Reichlin, S. y col. "Clinical Neuroendocrinology". Filadelfia, F.A. Davis. 1.977.

- Mason, J.W.; Hartley, L.H.; Kotchen, T.A.; Wherry, F.E. y col. "Plasma thyroid-stimulating hormone response in anticipation of muscular exercise in the human". Journal of Clinical Endocrin. Metab., 37: 403-406. 1.973.

- Mckelvey, G.W.A. "The role of the pituitary-adrenal system in the development of behavioral arousal". Irish J. Med. Sci., 147: Suppl. 1, 49-52. 1.978.

- McLoughlin, L.; Lowry, P.J.; Ratter, S. y col. "Beta-endorphin and beta-MSH in human plasma". Clin. Endocrinol., 12: 287-292. 1.980.

- McLoughlin, L.; Lowry, P.J.; Ratter, S.D. y col. "Characterisation of the proopiocortin family of peptides in human cerebrospinal fluid". Neuroendocrinology, 32: 209-212. 1.981.

- McNair, D.M.; Lorr, M. y Droppleman, L.F. "Profile of mood states". Educational and industrial testing service. San Diego, California 92107. 1.971.

- Metivier, G. "The effects of long-lasting physical exercise and training on hormonal regulation". En: Metabolic Adaptation to Prolonged Physical Exercise. H.Howald and J.R. Poortmans (eds.). Basel: Birkhauser Verlag, pp. 276-292. 1.975.

- Metzger, J.M. y Stein, E.A. "Beta-endorphin and sprint training". Life Sci., 34: 1.541-1.547. 1.984.

- Millan, M.J.; Przewlocki, R.; Jerlicz, M. y col. "Stress-induced release of brain and pituitary beta-endorphin: major role of endorphins in generation of hyperthermia, not analgesia". Brain Res., 208: 325-338. 1.981.
- Miller, M. y Moses, A.M. "Clinical states due to alteration of ADH release and action". En: "Neurohypophysis". (International Conference, Key Biscayne, Florida, 1.976), White Plains, N.Y., A.J. Phiebig (Basel, S. Karger), 1.977.
- Millhouse, O.E. "Lining of the third ventricle in the rat". En: "Brain-endocrine interaction. II. The ventricular system in neuro-endocrine mechanisms". K.M. Knigge (ed.). 1.975.
- Mole, P.A.; Oscai, L.B. y Holloszy, J.O. "Adaptation of muscle to exercise: increase in levels of palmityl CoA dehydrogenase, and the capacity to oxydize fatty acids". J. Clin. Invest., 50: 2.323-2.328. 1.971.
- Morley, J.E. "The endocrinology of the opiates and opioid peptides". Metabolism, 30: 195-209. 1.981.
- Mueller, G.P. "Beta-endorphin immunoreactivity in rat plasma: variations in response to different physical stimuli". Life Sci., 29: 1.669. 1.981.

- Mullen, P.E.; Jeffcoate, W.J.; Linsell, C. y col. "The circadian variation of immunoreactive lipotropin and its relationship to ACTH and growth hormone in man". Clin. Endocr., 11: 533-539. 1.979.
- Myers, R.D. "Blood-brain barrier. Techniques for the intracerebral administration of drugs". En: "Handbook of psychopharmacology". Vol. II. L.L. Iversen, S.D. Iversen and S.H. Snyder (eds.). 1.976.
- Naber, D.; Cohen, R.M.; Pickar, D. y col. "Episodic secretion of opioid activity in human plasma and monkey cerebrospinal fluid. Evidence for a diurnal rhythm". Life Sci., 29: 931-935. 1.981a.
- Naber, D.; Wirk-Justice, A. y Kafka, M.S. "Circadian rhythm in rat opiate receptor". Neurosci. Lett. 21: 45-50. 1.981b.
- Kakai, Y.; Nakao, K; Oki, I. y col. "Presence of immunoreactive beta-endorphin in plasma of patients with Nelson's syndrome and Addison's disease". Life Sci., 23: 2.293-2.298. 1.978.
- Nakanishi, S.; Taü, S.; Hirate, Y. y col. "A large product of cell-free translation of messenger RNA coding for corticotropin". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73: 4.319-4.323. 1.976.

- Nakanishi, S.; Inque, A.; Taii, S. y col. "Cell-free translation product containing corticotropin and beta-endorphin encoded by messenger RNA from anterior lobe and intermediate lobe of bovine pituitary". FEBS Lett., 84: 105-109. 1.977.
- Nakanishi, S.; Inque, A.; Kita, T. y col. "Nucleotide sequence of cloned DNA for bovine corticotropin-beta-lipotropin precursor". Nature, 278: 423-427. 1.979.
- Nakao, K.; Nakai, Y.; Oki, S. y col. "Presence of immunoreactive beta-endorphin in normal human plasma". J. Clin. Invest., 62: 1.395-1.398. 1.978.
- Nakao, K.; Nakai, Y.; Jigami, H.; Oki, S.; Fukata, J.; Imura, H. "Substantial rise of plasma beta-endorphin levels after insulin induced hypoglycemia in human subjects". J. Clin. Endocrinol. Metab., 49: 838. 1.979.
- Nakao, K.; Nakai, Y.; Oki, S. y col. "Immunoreactive beta-endorphin in human cerebrospinal fluid". J. Clin. Endoc. Metab., 50: 230-233. 1.980.
- Nemeroff, C.B. y Prange Jr, A.J. "Peptides and psychoneuroendocrinology". Archs. gen. Psychiat. Chicago, 35: 999-1.010. 1.978.

- Newmark, S.R.; Himathongkam, T.; Martín, R.P. y col. "Adrenocortical response to marathon running". J. Clin. Endocrinol. Metab., 42: 393-394. 1.976.
- Ney, R.L.; Shimizu, N. y col. "Correlation of plasma ACTH concentration with adrenocortical response in normal human subjects, surgical patients, and patients with Cushing's disease". J. Clin. Invest., 42: 1.669. 1.963.
- Ney, R.L.; Ogata, E. y col. "Structure-function relationships of ACTH and MSH analogues". En: Endocrinology: Proceedings. Second International Congress of Endocrinology, Part. II, Nueva York, American Elsevier Publishing co., Inc., p. 1.184. 1.964.
- Nicholson, W.E.; Liddle, R.A. y col. "Adrenocorticotrophic hormone biotransformation, clearance, and catabolism". Endocrinology, 103: 1.344. 1.978.
- Nilsson, K.O.; Heding, L.G. y Hokfelt, B. "The influence of short-term submaximal work on the plasma concentrations of catecholamines, pancreatic glucagon and growth hormone in man". Acta Endocrinol., 79: 286-294. 1.975.
- Noll, F.; Bergmeyer, H.U. "Methoden der enzymatischen Analyse". Verlag Chemie, Weinheim., 2: 1.521. 1.974.

- Odagiri, E.; Sherrell, B.J.; Mount, G.D. y col. "Human placental immunoreactive corticotropin, lipotropin and beta-endorphin: evidence for a common precursor". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 2.027-2.031. 1.979.
- Oliver, C.; Michal, R.S. y Porter, J.C. "Hypothalamic-pituitary vasculature: Evidence for retrograde blood flow in the pituitary stalk". Endocrinology, 101: 598-604. 1.977.
- Oltras, C.M.; Carreras, A.; Mendoza, C. "Correlación entre beta-endorfina, LH y FSH: Estimulación con GnRH". XX Cong. Nac. Soc. Esp. Ciencias Fisiológicas, Murcia. pg. 207. 1.984.
- Orwoll, E.; Kendall, J.W.; Lamorera, L. y col. "Adrenocorticotropin and melanocyte stimulating hormone in the brain". Endocrinology, 104: 1.845-1.852. 1.979.
- Oyama, T.; Jin, T. y Yamaya, R. "Profound analgesic effects of beta-endorphin in man". Lancet, 1: 122-124. 1.980.
- Oyama, T.; Fukushi, S.; Jin, T. y col. "Epidural beta-endorphin in treatment of pain". Can. Anaesth. Soc. J., 29: 24-26. 1.982.

- Pardridge, W.M.; Frank, H.J.L.; Cornford, E.M. y col. "Neuropeptides and the blood-brain barrier". En: "Neurosecretion and brain peptides". pp. 321-329. 1.981.
- Passaro, E.Jr.; Debas, H.; Oldendor, W. y Yamada, T. "Rapid appearance of intraventricularly administered neuropeptides in the peripheral circulation". Brain Res., 241: 338-340. 1.982.
- Pasternak, G.W. Goodman, R. y Snyder, S.H. "An endogenous morphine-like factor in mammalian brain". Life Sci., 16 (12): 1.765-9. 1.975.
- Pelletier, G.; Leclerc, R. "Immunohistochemical localization of adrenocorticotropin in the rat brain". Endocrinology, 104 (5): 1.426-33. 1.979.
- Pert, C.B. y Snyder, S.H. "Opiate receptor: demonstration in nervous tissue". Science, 179: 1.011-4. 1.973.
- Pert, C.B.; Pert, A. y Tallman, J.F. "Isolation of a novel endogenous opiate analgesic from human blood". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73 (7): 2.226-30. 1.976.
- Pert, A.; Simantow, R. y Snyder, S.H. "A morphine-like factor in mammalian brain: analgesic activity in rats". Brain Res., 136: 523-533. 1.977.

- Pezalla, P.D.; Lis, M.; Seidah, N.G. y col. "Lipotropin, melanotropin and endorphin: In vivo catabolism and entry into cerebrospinal fluid". Can. J. Neurol. Sci., 5: 183-188. 1.978.
- Pfeiffer, A.; Pasi, A.; Mehraein, P. y col. "Opiate receptor binding sites in human brain". Brain Res., 248: 87-96. 1.982.
- Piehl, K.; Adolfsson, S.; Nazar, K. "Glycogen storage and glycogen synthetase activity in trained and nontrained subjects". Acta Physiol. Scand., 90: 779-788. 1.974.
- Porte, D. y Williams, R.H. "Inhibition of insulin release by norepinephrine in man". Science, 152: 1.248-1.250. 1.966.
- Pruett, E.D.R. "Plasma insulin concentrations during prolonged work at near-maximal oxygen intake". J. App. Physiol., 29: 155-158. 1.970.
- Puig, M.M.; Gascon, P.; Craviso, G.L. y Musacchio, J.M. "Endogenous opiate receptor ligand: electrically induced release in the guinea pig ileum". Science, 195 (4.276): 419-20. 1.977.
- Puig, M. "Papel de las endorfinas en la patofisiología del dolor". En: "Fisiopatología y tratamiento del dolor". Curso monográfico para postgraduados. 1.980.

- Rapaport, S.I.; Klee, W.D.; Pettigrew, K.D. y col. "Entry of opioid peptides into the central nervous system". Science, 207: 84-86. 1.980.
- Rees, L.H.; Burke, C.W.; Chard, T. y col. "Possible placental origin of ACTH in normal human pregnancy". Nature, 254: 620-2. 1.975.
- Roberts, J.L. y Herbert, E. "Characterization of a common precursor to corticotropin and beta-lipotropin. Identification of beta-lipotropin peptides and their arrangement relative to corticotropin in the precursor synthesized in a cell-free system". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74: 5.300. 1.977.
- Roberts, J.L.; Ching-Ling, C.C.; Dionne, F.T. y col. "Peptide hormone gene expression in heterogeneous tissues". Trends Neurosci., 5: 314-317. 1.982.
- Robertson, G.L. "The regulation of vasopressin function in health and disease". Recent Progr. Horm. Res., 33: 333. 1.977.
- Rodriguez, E.M. "The cerebrospinal fluid as a pathway in neuroendocrine integration". J. Endocr., 71: 407-443. 1.976.

- Ross, M.; Dingledine, R.; Cox, B.M. y Goldstein, A. "Distribution of endorphins (peptides with morphine-like pharmacological activity) in pituitary". Brain Res., 124: 523-532. 1.977.
- Rossier, J., Vargo, T.M.; Minick, S. y col. "Regional dissociation of beta-endorphin and enkephalin contents in rat brain and pituitary". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74: 5.162-5.165. 1.977a.
- Rossier, J.; French, E.D.; Rivier, C. y col. "Foot-shock induced stress-increases beta-endorphin levels in blood but not brain". Nature, 210: 618-620. 1.977b.
- Rossier, J.; French, E.; Gros, C. y col. "Adrenectomy, dexamethasone or stress alters opioid peptide levels in rat anterior pituitary but not intermediate lobe or brain". Life Sci., 25: 2.105-2.112. 1.979.
- Rudman, D. y Issacs, J.W. "Effect of intrathecal injections of melanotropic-lipolytic peptides on the concentration of 3' 5'-cyclic adenosine monophosphate in cerebrospinal fluid". Endocrinology, 97: 1.476-1.480. 1.975.
- Schulz, R.; Wüster, M. y Herz, A. "Detection of a long acting endogenous opioid in blood and small intestine". Life Sci., 21 (1): 105-116. 1.977.

- Selkurt, E.E. "Physiology", 3^a Ed. Editada por Little, Brown and Company, Boston, 1.971.
- Selye, H. "Stress. The physiology and pathology of exposure to stress". Acta Med. Montreal. 1.950.
- Shephard, R.J. y Sidney, K.H. "Effects of physical exercise on plasma growth hormone and cortisol levels in human subjects". Exerc. Sport Sci. Rev., 3: 1-30. 1.975.
- Shimazer, T. y Amakawa, A. "Regulation of glycogen metabolism in liver by the autonomic nervous system". Biochim. Biophys. Acta., 165: 335-348. 1.968.
- Smith, D.G. y Zakarian, S. "Selective processing of beta-endorphin in regions of porcine pituitary" Nature, 288: 613-615. 1.980.
- Steiner, D.F. "Peptide hormone precursors: biosynthesis, processing and significance". En: "Peptide hormones": 49-64. J.A. Parsons (ed.). 1.976.
- Stern, L. y Gautier, R. "Recherches sur le liquide cephalo-raquidien: les rapports entre le liquide cephalo-raquidien et la circulation sanguinea". Arch. Int. Physiol., 17: 138-192. 1.921.
- Suda, T., Liotta, A.S. y Krieger, D.T. "Beta-endorphin is not detectable in plasma from normal human subjects". Science, 202: 221-223. 1.978.

- Sutton, J.R. y Casey, J.H. "The adrenocortical response to competitive athletics in veteran athletes". J. Clin. Endocrinol. Metab., 40: 135-138. 1.975.
- Terenius, L. "Characteristics of the receptor for narcotic analgesics in synaptic membrane fraction from rat brain". Acta Pharmacol. Toxicol., 33: 377-384. 1.973.
- Terenius, L. "Effect of peptides and amino acids on dihydromorphine binding to the opiate receptor". J. Pharm. Pharmacol., 27: 450-452. 1.975.
- Terenius, L. "Somatostatin and ACTH are peptides with partial antagonist-like selectivity for opiate receptors". Eur. J. Pharmacol., 38: 211-213. 1.976.
- Terenius, L y Wahlström, A. "Search for an endogenous ligand for the opiate receptor". Acta Physiol. Scand, 94 (1): 74-81. 1.975.
- Terenius, L; Gispen, W.H. y De Wied, D. "ACTH-like peptides and opiate receptors in the rat brain: Structure activity studies". Eur. J. Pharmacol., 33: 395-399. 1.975.
- Terjung, R.L. y Tipton, C.M. "Plasma thyroxine and thyroid-stimulating hormone levels during submaximal exercise in humans". Amer. J. Physiol., 220: 1.840-1.845. 1.971.

- Terjung, R.L. y Winder, W.W. "Exercise and thyroid function". Mec. Sci. Sports, 7: 20-26. 1.975.
- Teschemacher, H.; Opheim, K.E.; Cox, B.M. y col. "A peptide-like substance from pituitary that acts like morphine. I. Isolation". Life Sci., 16 (12): 1.771-1.775. 1.975.
- Tharp, G.D. "The role of glucocorticoids in exercise". Med. Sci. Sports, 7: 6-11. 1.975.
- Thompson, E.B.; Lippman, M.E. "Mechanism of action of glucocorticoids". Metabolism., 23: 159-202. 1.974.
- Tortora, G.J.; Evans, R.L.; Anagnostakos, N.P. "Principles of Human Physiology". Harper and Row, Publishers, New York. 1.982.
- Tseng, L.F.; Loh, H.H. y Li, C.H. "Beta-endorphin as a potent analgesic by intravenous injection". Nature, 263: 239-240. 1.976.
- Vale, W.; Rivier, C.; Yang, L. y col. "Effects of purified hypothalamic corticotrophin-releasing factor and other substances on the secretion of adenocorticotrophin and beta-endorphin-like immunoactivities in vitro". Endocrinology, 103: 1.910-1.915. 1.978.

- Biochemin*
- Vale, W.; Spress, J.; Rivier, C. y col. "Characterisation of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin". Science, 213: 1.394-1.397. 1.981.
 - Vecchiet, L.; Dolce, V.; Fini, F. y col. "On the muscular pain in the stress trials". J. Sports Med. Phys. Fitness, 13: 26-31. 1.973.
 - Verhoef, J.; Palkovits, M.; Witter, A. "Distribution of a behaviorally highly potent ACTH₄₋₉ analog in rat brain after intraventricular administration". Brain Res., 126: 89-104. 1.979.
 - Vermes, I.; Mulder, G.M.; Smellik, P.G. y col. "Differential control of beta-endorphin, beta-lipotropin secretion from anterior and intermediate lobes of the pituitary gland in vitro". Life Sci., 27: 1.761-1.768. 1.980.
 - Vranic, M.; Kawamori, R. y Wrenshall, G.A. "The role of insulin and glucagon in regulating glucose turnover in dogs during exercise". Med. Sci. Sports 7: 27-33. 1.975.
 - Wardlaw, S.L. y Frantz, A.G. "Measurement of beta-endorphin in human plasma". J. Clin. Endocr. Metab. 48: 176-180. 1.979.

- Wardlaw, S.L.; Wehrenberg, W.B.; Ferin, M. y col. "High levels of beta-endorphin in hypophyseal portal blood". Endocrinology, 106: 1.323-1.326. 1.980.
- Watson, S.J.; Barchas, J.D. y Li, C.H. "Beta-lipotropin: localization of cell and axons in rat brain by immunocytochemistry". Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74: 5.155-5.188. 1.977.
- Watson, S.J.; Akil, H.; Richard, C.W. y col. "Evidence for two separate opiate peptide neuronal systems". Nature, 275: 226-228. 1.978.
- Watson, S.J.; Akil, H. y Walker, J.M. "Anatomical and biochemical studies of the opioid peptides and related substances in the brain". Peptides, 1: 11-20. 1.980.
- Watson, S.J. y Akil, H. "Opioid peptides and related substances: immunocytochemistry". En: "Neurosecretion and brain peptides". pp. 77-86. J.B. Martin; S. Reichlin and K.L. Brick (eds.). 1.981.
- Weber, E.; Evans, C.J. y Barchas, J.D. "Multiple endogenous ligands for opioid receptors". Trends Neurosci., 6: 333-336. 1.983.
- Weichselbaum, C.T. "An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma". Am. J. Clin. Path., 16: 40. 1.946.

- Weideman, E.; Saito, T.; Linfoot, J.A. y col. "Specific radioimmunoassay of human beta-endorphin in unextracted plasma". J. Clin. Endocr. Metab., 49: 478-480. 1.979.
- Werner, W.; Rey, H.G. y Wielinger, H. "Über die Eigenschaften eines neuen Chromogens für die Blutzuckerbestimmung nach der GOD/POD-Methode". Z. Analyt. Chem., 252: 224. 1.970.
- Williams, R.H. "Textbook of Endocrinology". W.B. Sannders Company, 1.981.
- Willis, W.D. y Grossman, R.G. "Medical Neurobiology". The C.U. Mosby Company (eds.). 1.981.
- Weindl, A. y Joint, R.J. "Ultrastructure of ventricular walls. Three dimensional study of regional specialization". Arch. Neurol., 26: 420-427. 1.978.
- Weindl, A. y Sofroniew, M.V. "Relation of neuropeptides to mammalian circumventricular organs". En: "Neurosecretion and brain peptides": 303-320. J.B. Martin; S. Reichlin and K.L. Bricks (eds.). 1.981.
- Wiegant, V.M.; Gispen, W.H., Terenius, L. y col. "ACTH-like peptides and morphine: interaction at the level of the CNS". Psychoneuroendocrinology, 2: 63-69. 1.977.

- Wood, P.L.; Malthe-Sorensen, D.; Cheney, D.L. y col. "Increase of hippocampal acetylcholine turnover rate and stretching yawning syndrome elicited by alpha-MSH and ACTH". Lif Sci., 22: 673-678. 1.978.
- Wood, J.H. "Neuroendocrinology of cerebrospinal fluid: peptides, steroids and other hormones". Neurosurgery, 11: 293-305. 1.982.
- Yaksh, T.L.; Gross, K.E. y Li, C.H. "Studies on the intrathecal effect of beta-endorphin in primates". Brain Res., 241:261-269. 1.982.
- Yalow, R.S. "The limitations of radioimmunoassay (RIA)". Trends An. Chem., 1: 6-8. 1.982.
- Yamaguchi, H.; Liotta, A. y Krieger, D. "Simultaneous determination of human plasma immunoreactive beta-lipotropin, gamma-lipotropin and beta-endorphin using immune-affinity chromatography". J. Endocr. Metab., 51: 1.002-1.008. 1.980.
- Zakarian, S. y Smyth, D. "Distribution of active and inactive forms of endorphins in rat pituitary and brain". Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 76: 5.972-5.976. 1.979.

- Zimmerman, E. y Krivoy, W. "Antagonism between morphine and the polypeptides ACTH, ACTH₁₋₂₄ and b-MSH in the nervous system". Prog. Brain Res., 39: 383-392. 1.973.

- Zimmerman, E.A.; Liotta, A. Krieger, D.T. "Beta-lipotropin in brain: localization in hypothalamic neurons by radioimmunoassay peroxidase technique". Cell. Tissue. Res., 186: 393-398. 1.978.

- Zimmerman, E.A. "Neurosecretion and Brain Peptides Implications for Brain Function and Neurological Disease". J.B. Martín, S. Reichlin y K.L. Bick. (eds.). pp. 299-302, Raven Press, New York, 1.981.

- Zukin, R.S. y Zukin, S.R. "The case for multiple opiate receptors". Trens Neurosci., 7: 160-164. 1.984.

A D D E N D U M

- Goodman, L.S. y Gilman, A. "The Pharmacological Basis of Therapeutics". MacMillan Publishing Co , Inc. New York. 1.980.
- Snyder, S.H. "Opiate receptors and internal opiates". Sci. Am., 236: 44-56. 1.977.

Donnerstag



R. H. L.

e



Biblioteca Universitaria de Granada



01051907