

TESIS DOCTORAL
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE GRANADA



TITULO

BETA-ENDORFINA Y HORMONA ADRENOCORTICOTROPA
EN RECIEN NACIDOS CON
DEPRESION VITAL
Y
SUFRIMIENTO CEREBRAL AGUDO-SUBAGUDO

AUTOR

ADULFO SANCHEZ MARENCO

GRANADA, JULIO 1990

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN Medicina

Curso de 19 90 a 19 91

Folio 108

Número 216

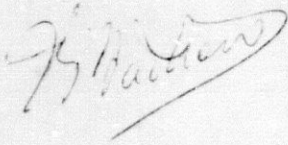
Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Adolfo
Sánchez Muñoz, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente
tema, que libremente había elegido: "Bete - eudorfie y hormone, adrener
ticipos en el caso de un estado con depresión vital y sufrimiento
cerebral agudo - subagudo"

Terminada la lectura y contestadas la objeciones formuladas por los Jueces del Tribunal, este
se calificó de apto cum laude, por su originalidad.

Granada 14 de Diciembre de 19 90

EL PRESIDENTE,

El Secretario del Tribunal,



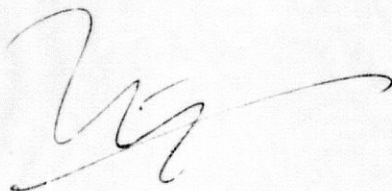
Fdo.: José González Huchero

Fdo.: G. Galdo Ruiz

EL VOCAL,

EL VOCAL,

EL VOCAL,

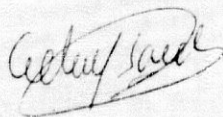


Fdo.: Miguel Nieto

Fdo.: J. A. Gómez López

Fdo.: José F. Rojas Rey

FIRMA DEL GRADUANDO,



A MI FAMILIA
A MI ESPOSA M^a DEL CARMEN
A MIS HIJOS

CERTIFICACIONES

**DON JUAN ANTONIO MOLINA FONT, CATEDRATICO
DE PEDIATRIA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA Y DI-
RECTOR DEL DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA DEL HOS-
PITAL UNIVERSITARIO DE GRANADA**

CERTIFICA:

Que Adolfo Sánchez Marengo, Licenciado en Medicina y Cirugía, y especialista en Pediatría, ha realizado su trabajo de investigación prospectiva para la confección de la memoria de Tesis Doctoral bajo mi dirección, y cuyo título es: "Beta-endorfina y hormona adrenocorticotropa en recién nacidos con depresión vital y sufrimiento cerebral agudo-subagudo", la cual ha finalizado con todo aprovechamiento, habiéndolo sido leído y revisado la presente, y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

Granada, Julio 1990

**DON ROGELIO BAYES GARCIA, PROFESOR TITULAR
DE PEDIATRIA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA Y JEFE
DE SERVICIO DE RECIEN NACIDOS DEL DEPARTAMEN-
TO DE PEDIATRIA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE
GRANADA**

CERTIFICA:

Que Adolfo Sánchez Marengo, Licenciado en Medicina y Cirugía, y especialista en Pediatría, ha realizado su trabajo de investigación prospectiva para la confección de la memoria de Tesis Doctoral bajo mi dirección, y cuyo título es: "Beta-endorfina y hormona adrenocorticotropa en recién nacidos con depresión vital y sufrimiento cerebral agudo-subagudo", la cual ha finalizado con todo aprovechamiento, habiéndolo leído y revisado en el presente, y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

Granada, Julio 1990

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

El trabajo de investigación que a continuación se presenta y que tengo el honor de someter al autorizado y elevado criterio del TRIBUNAL DESIGNADO para su valoración, es el resultado varios años de trabajo y constituye acontecimiento de enorme satisfacción personal por cuanto supone la coronación de una serie de esfuerzos iniciados al ingreso en la FACULTAD de MEDICINA de la UNIVERSIDAD de GRANADA.

Justo es reconocer que este trabajo no es en absoluto una labor individual, ni en la motivación ni en la realización. La primera es la identificación con todos y cada uno de, como me agrada llamarles con orgullo, mis maestros, que han intentado imbuir en mí lo mejor de sí mismos. La segunda es la labor de un equipo multidisciplinario, cuyo eje común es el "espíritu universitario" en su saber "ser y estar", el cual por encima de sus posibles imperfecciones como humanos, anteponen el quehacer altruístico que exige esta dedicación de investigador y enseñante.

Cuando tuve la fortuna de ser incluido en esta "línea de investigación" departamental, no podía sospechar que ello conllevaría horas de esfuerzo y sinsabores que se verían, no solo compensadas, sino superadas por enormes satisfacciones. Se me presentó la ocasión de tabajar, hombre a hombre, con maestros, a los que más adelante haré referencia especial, pero también aprendí de muchas personas que habitualmente quedan en el anonimato, como es el caso de "Amparo", la señorita Amparo Muñoz, que aún con un estado precario de salud, fue la que me ayudó de forma definitiva en la realización de las determinaciones bioquímicas.

Quiero manifestar mi más sincera y profun-

ADULFO SANCHEZ MARENCO

da gratitud a mi maestro Profesor Juan Antonio Molina Font, Catedrático de Pediatría de la Universidad de Granada y Director del Departamento de Pediatría del Hospital Universitario de Granada, a quién debo, además de la dirección y supervisión de este trabajo, mi identificación por el estudio acerca del "niño" en su sentido más amplio. El alto nivel de su capacidad docente e investigadora, junto a su gran riqueza humana, han hecho que este trabajo resulte mucho más acertado.

Ni que decir tiene, que casi siempre existe alguien que dispuesto a colaborar, con inagotable perseverancia, paciencia y dedicación, que unido a una extraordinaria capacidad de orden en su trabajo, preparación científica e investigadora y gran dimensión humana, posibilitan la culminación de un trabajo. Ni que decir tiene, que todo ello lo he encontrado en el Profesor Rogelio Bayés García, Profesor Titular de Pediatría de la Universidad de Granada, Jefe de Servicio de Neonatología del Hospital Universitario de Granada. Ni que decir tiene, que de él he aprendido el verdadero valor de la dedicación de una vida al estudio e investigación científica. Sus acertados consejos y su meticulosidad en el trabajo diario han sido mi mayor acicate y han hecho posible la culminación de este trabajo.

Merecedora de todo elogio es la colaboración de la Profesora Dña. Estrella Ruiz Requena, Profesora Titular de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, que puso a mi disposición las esmeradas, complejas y laboriosas, técnicas de radioinmunoanálisis para las determinaciones bioquímicas. Por ello, y por sus enseñanzas, muchas gracias.

Especial reconocimiento y gratitud a los miembros del Servicio de Recién Nacidos, en

TESIS DOCTORAL

AGRADECIMIENTOS

especial al Profesor Titular de Pediatría, D. Eduardo Narbona López, por su amistad, por sus enseñanzas en el campo de la Neonatología, por sus constantes palabras de apoyo, por su colaboración desinteresada en esta investigación, por haberle restado dificultades a las situaciones críticas en el curso del trabajo, que sin duda se han ido presentando, aun inadvertidamente para mí. Por ello siempre le recordaré con admiración y gratitud.

A los miembros del Departamento de Pediatría, que día a día, durante varios años me han transmitido sus conocimientos y me han brindado su amistad, quiero manifestarles mi gratitud y dejar bien expreso que de todos y cada uno de ellos he intentado llevarme lo mejor de sus enseñanzas, de sus valias personales y profesionales.

Quiero agradecer al personal de enfermería y auxiliar de clínica del Servicio de Recién Nacidos, que por encima de sus obligaciones profesionales y laborales, han sabido en todo momento colaborar a mi lado para que este trabajo de investigación culminara con éxito. Por ello mis más sinceras gracias.

Sin el apoyo Institucional y de las Autoridades Universitarias, especialmente del Decanato de la Facultad de Medicina, hubiera sido más difícil el desarrollo de este trabajo de investigación. Por ello gracias.

No sería justo pasar por alto el tiempo que he restado a mi esposa e hijos durante la elaboración de esta memoria de Tesis Doctoral y a los que no podré pagar más que con cariño y amor.

A todos los niños que constituyen el bien más preciado de la humanidad, fuente y guía de nuestros conocimientos y motivo de nuestra inquietud por la consecución del mejor estado de salud posible, queremos expresar nuestra gratitud y aunque en este trabajo quedan expresados en algo tan frío como parámetros numéricos, no es así en nuestro espíritu en el que perdurarán de manera muy especial al haber sido protagonistas activos que generosa, voluntaria y anónimamente han hecho posible la realización de este trabajo.

A todos ellos, muchas gracias.

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

- ACTH:** Hormona adrenocorticotropa
AU: Arteria umbilical
Ac: Anticuerpo
Ag: Antígeno
ARI: Alto riesgo infeccioso
CC: Coeficiente de correlación
CD: Coeficiente de determinación
CID: Coagulación intravascular diseminada
CRF: Factor liberador de corticotropina
CU: Cordón umbilical
CV: Coeficiente de variación
DAP: Ductus arterioso persistente
EDTA: Acido etilen diamino tetracético
EG: Edad gestacional
ELISA: Investigación inmunoabsorbente ligada con enzimas
F: F de Snedecor
FC: Fracción ligada al complemento
FiO₂: Fracción inspirada de oxígeno
FSH: Hormona folículo estimulante
GABA: Acido gamma amino butírico
GH: Hormona de crecimiento
HIC: Hemorragia intracraneal
LCR: Líquido cefalorraquídeo
LH: Hormona luteinizante
LH-RH: Hormona liberadora de la hormona luteinizante
M: Molar
MSH: Hormona estimulante de los melanocitos
N: Normal
NEC: Enterocolitis necrotizante
PN: Periodo neonatal
POMC: Pro-opiomelanocortina
PRL: Prolactina
RIA: Radioinmunoanálisis
SAM: Síndrome de aspiración de meconio
SDR: Síndrome de distrés respiratorio
SEM: Error estándar de la media
SFA: Sufrimiento fetal agudo
SIDS: Síndrome de muerte súbita del lactante
TSH: Hormona estimulante del tiroides
U: Unidades
x: media
a: coeficiente de regresión
b: término independiente
cDNA: Acido desoxirribonucleico catenario
cm: centímetro
dl: decilitro
fmol: femtomol
gr: gramo
L: litro
lat: latidos
mRNA: Acido ribonucleico mensajero
mg: miligramo
min: minuto
ml: mililitro
mm: milímetro
mm Hg: milímetro de mercurio
mmol: millimol
n: Número de casos
p: Nivel de significancia
pCO₂: Presión parcial de carbónico
pO₂: Presión parcial de oxígeno
pg: picogramo
pmol: picomol
r: Coeficiente de correlación
rpm: Revoluciones por minuto
t: "t" de Student
Beta-EP: Beta-Endorfina
Beta-LPH: Beta-Lipotropina
Beta-MSH: Beta hormona estimulante de los melanocitos
°C: Grado centígrado
Alfa-EP: Alfa-Endorfina
Alfa-MSH: Alfa hormona estimulante de los melanocitos

INDICE

INDICE

RESUMEN	PAG.	RESULTADOS	
LINEA DE INVESTIGACION			
INTRODUCCION			
-ANTECEDENTES HISTORICOS.....	1	-VALORACION DE LAS CONCEN- TRACIONES DE BETA-ENDORFINA Y HORMONA ADRENOCORTICOTRO- PA EN PLASMA DE CORDON UMBI- LICAL Y RELACIONES CON EL GRA- DO DE ESTRES INTRAPARTO O DE- PRESION VITAL NEONATAL.....	41
-ESTRUCTURA QUIMICA Y MOLECULAS PRECURSORAS.....	2	-VALORACION DE LA BETA-ENDORFI- NA EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO Y CAPACIDAD DE MANTENER MO- VIMIENTOS RESPIRATORIOS EN EL PERIODO NEONATAL EN RECIEN NA- CIDOS AFECTOS DE UN SINDROME DE SUFRIMIENTO CEREBRAL AGUDO-SUBAGUDO.....	42
-BIOSINTESIS.....	2		
-DISTRIBUCION DE PEPTIDOS OPIOIDES.....	4		
-RECEPTORES OPIOIDES.....	4		
-FARMACOLOGIA.....	7		
-CATABOLISMO DE LA BETA-ENDORFINA.....	8	DISCUSION	
-MECANISMO DE ACCION.....	9	-CONSIDERACIONES GENERALES....	51
-ACTIVIDAD BIOLOGICA Y FISIOLOGICA DE LOS OPIOIDES ENDOGENOS.....	9	-ACTH Y BETA-ENDORFINA EN EL RECIEN NACIDO EN EL MOMEN- TO DEL PARTO.....	52
-BETA-ENDORFINA Y ACTH DURANTE EL EMBARAZO, LA DILATACION Y EL PARTO.....	15	-ACTH Y BETA-ENDORFINA: MADUREZ FETAL Y ESTRES DEL PARTO.....	53
-BETA-ENDORFINA Y ACTH EN LA PLACENTA Y EN LIQUIDO AMNIOTICO	16	-CONCENTRACIONES DE BETA-ENDORFINA EN EL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO DE NEONATOS AFECTOS DE UN SINDROME DE SUFRIMIENTO CEREBRAL AGUDO- SUBAGUDO.....	57
-BETA-ENDORFINA Y ACTH EN EL PLASMA FETAL.....	18		
-FACTORES REGULADORES DE LA BETA-ENDORFINA Y ACTH EN EL PERIODO NEONATAL.....	21	CONCLUSIONES.....	63
JUSTIFICACION Y OBJETIVO.....	25	BIBLIOGRAFIA.....	65
MATERIAL Y METODOS		ANEXO	
-CASUISTICA.....	29	TRATAMIENTO ESTADISTICO	
-ANALISIS BIOQUIMICOS.....	30		
-METODO BIOESTADISTICO.....	38		

RESUMEN

RESUMEN

INTRODUCCION

En 1973, PERT Y SNYDER, descubrieron los receptores opioides en el cerebro animal y unos años más tarde, dos laboratorios que trabajaban independientemente dieron a conocer de forma simultánea el primer ligando endógeno conocido para esos receptores, al que denominaron con el nombre de encefalinas y en 1976, Li aisló la beta-endorfina de la hipófisis del camello. Un año más tarde, los investigadores norteamericanos MAINS Y EIPPER (1977) demostraron la existencia de una gran molécula de 264 aminoácidos y 31 K, a la que denominaron POMC y observaron que contenía las cadenas de numerosas hormonas:

Por una parte, la -LPH (de 91 aa) que a su vez contiene las secuencias de la -EP y de la Met-enkefalina, y por otra la corticotropina o ACTH y por último 3 tipos de hormonas melanotropas o MSH.

Se ha podido conocer que desde la 7ª semana de vida embrionaria se produce POMC en el lóbulo intermedio hipofisario y tras la (vigésimoquinta) 25 semana casi exclusivamente, en el lóbulo anterior, aunque también se ha detectado actividad -endorfina en áreas tan dispares como el núcleo arcuato del hipotálamo, y la sustancia gris periventricular, el LCR, la placenta, el líquido amniótico, el páncreas, los ovarios, los testículos y las células sanguíneas, y se han demostrado receptores opioides en las vías aferentes de la médula y el tronco encefalo, el sistema limbico, el lóbulo posterior hipofisario, y las neuronas del sistema nervioso autónomo.

La -endorfina, es almacenada en la hipófisis y liberada de forma concomitante con la

ACTH en situaciones de estrés, y debido a sus diferentes localizaciones, los neuropéptidos hipofisarios se han implicado en la regulación hormonal del eje hipotálamo-hipofisario, pancreático, en la respuesta al estrés, en la patogenia de numerosas enfermedades neuropsiquiátricas, en la respuesta analgésica y tolerancia al dolor, en la mediación de la respuesta inmune y en el control de las funciones autónomas cardiorrespiratorias, siendo estas últimas las que más han llamado la atención de pediatras y neonatólogos.

Existen, por otra parte, pocas aportaciones acerca de los niveles de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo en recién nacidos afectados de un sufrimiento cerebral agudo-subagudo y de las relaciones que pudieran recibir entre aquellos y factores tales como madurez feto-neonatal, acidosis intraparto, depresión vital neonatal, días de vida postnatal y capacidad de mantener espontáneamente la respiración, todos ellos citados en la literatura especializada y que influirían en la respuesta secretora adenohipofisaria.

OBJETIVO

Con estos antecedentes, el presente estudio tiene por finalidad determinar: 1) el patrón plasmático de ACTH y beta-endorfina en recién nacidos normales y afectados de una hipoxia intraparto severa; y, 2) analizar los niveles de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo en recién nacidos con un síndrome cerebral agudo-subagudo y establecer si exist alguna relación con la madurez feto-neonatal, con el grado de hipoxia intraparto, la depresión vital neonatal, los días de vida postnatal y la capacidad de

ADULFO SANCHEZ MARENCO

TESIS DOCTORAL

RESUMEN

mantener una respiración espontánea.

MATERIAL Y METODOS

CASUISTICA

El estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Se estudian dos grupos de recién nacidos como sigue:

a) La inmunorreactividad de beta-endorfina y la hormona adrenocorticotropa (ACTH) se midieron en el plasma obtenido del cordón umbilical de 47 recién nacidos a término, afectados de diversos grados de "estrés" agudo intraparto, de acuerdo con el pH (Blood Gas System AVL-900) y las concentraciones de lactato de arteria umbilical (Lactate Analyzer 640 de Roche^R), y del grado de depresión vital al nacimiento mediante puntaje del test de Apgar (APGAR, 1953). Este grupo de recién nacidos fue subdividido en dos subgrupos en función del pH de arteria umbilical.

El primer subgrupo (G-I) quedó configurado por 28 neonatos cuyo pH de arteria umbilical fue superior a 7.20, con un valor medio de 7.26 ± 0.008 y unos valores medios de las concentraciones de lactato en arteria umbilical de 3.15 ± 0.14 mmol/L, y ausencia de depresión vital al nacimiento con un puntaje del test de Apgar superior a 7 puntos al minuto y a los cinco minutos (rangos: 7-10 y 9-10, respectivamente).

El segundo subgrupo (G-II) se formó con 19 recién nacidos afectados de una acidosis intraparto intensa, con un pH de arteria umbilical inferior a 7.20, y cuyo valor medio resultó de 7.10 ± 0.01 , y una concentración media de lactato en arteria umbilical de 6.41 ± 0.44 mmol/L; este grupo mostró una depresión vital importante al nacimiento con un puntaje del test de Apgar en un rango de 1-9 al minuto y de 3-10 a los cinco minutos de vida.

TESIS DOCTORAL

Ambos subgrupos fueron homogéneos para la edad gestacional y peso al nacimiento (madurez fetal), siendo de 39.6 ± 0.2 semanas versus 39.6 ± 0.6 semanas (p: NS) y 3.368 ± 67 g versus 3.430 ± 68 g (p: NS), respectivamente.

b) El segundo grupo está constituido por 23 recién nacidos con manifestaciones clínicas de sufrimiento cerebral agudo-subagudo (JIMENEZ, 1983), cuyos niveles de beta-endorfina se determinaron en el líquido cefalorraquídeo (LCR), obtenido por punción lumbar en el periodo neonatal a los 7.9 ± 1.6 días de vida. La punción lumbar estuvo indicada por criterios estrictamente médicos, al margen del grupo de investigación, e indicada en el escrutinio biológico-diagnóstico de una sepsis, meningitis o hemorragia intracraneal secundaria a hipoxia-isquemia intraparto.

Los antecedentes de madurez fetal y grado de "estrés" intraparto fueron los siguientes: Edad gestacional de 39.00 ± 0.69 semanas, y peso al nacimiento de 3.028 ± 188 g; pH de arteria umbilical de 7.21 ± 0.03 y 10/23 tuvieron un puntaje del test de Apgar inferior a 7 a los cinco minutos.

El estado clínico (promedio de los valores paramétricos de las últimas constantes vitales controladas previas a la punción lumbar) antes de la obtención de la muestra de LCR para la determinación de beta-endorfina era el siguiente: 1.- ESTADO RESPIRATORIO: 17/23 mantenían una respiración espontánea (independiente de que estuvieran recibiendo alguna medida de soporte respiratorio, v.g. oxigenoterapia con campana de Hood, y 6/23 recibían soporte ventilatorio (IMV) (tipo de respirador "Infant Ventilator Mod. BP-200") por depresión respiratoria central (en ausencia de patología pulmonar). 2.- ESTADO METABOLICO: Gasometría arterial (analizada mediante un "AVL- Automatic Blood Gas System 940"): pH 7.27 ± 0.02 , paO_2 68.4 ± 6.63 mm Hg, $paCO_2$ 39.0 ± 2.0 mm Hg; Glucemia 88.5 ± 7.9 mg/dl. 3.- ESTADO CARDIOCIRCULATORIO: Presión arterial (medición incruenta mediante

ADULFO SANCHEZ MARENCO

Ohio 2200 neonatal NIBP-Monitor), presión sistólica 67.5 ± 4.2 mm Hg y presión diastólica 41.5 ± 3.0 mm Hg; Frecuencia cardiaca (Monitorizada mediante monitor "Corometrics"- 515) 134 ± 6 latidos por minuto. 4.- ESTADO DE TERMOREGULACION (los pacientes estaban en condiciones de ambiente térmico neutro según madurez fetal -peso- y el control se refiere a la medición de la temperatura central -rectal o superficie hepática) 36.4 ± 0.1 grados centígrados.

ANALISIS BIOQUIMICOS

La ACTH plasmática y beta-endorfina del plasma y líquido cefalorraquídeo fueron determinadas por radioinmunoensayo (ACTH: Cea-Sorin Biomedica SpA, Divisions Diagnostici 13040 Saluggia- Vercelli-Italia; beta-endorfina: Immuncnuclear Co., Stillwater, Minnesota 55082, USA) en un gamma-contador LKB-Wallac 1280 Ultragramma.

METODO BIOESTADISTICO

Los datos paramétricos que definen las características de la casuística (madurez fetal: edad gestacional y peso al nacimiento), los valores que se tuvieron en cuenta para la estimación del grado de sufrimiento fetal agudo (acidosis fetal: pH y lactacidemia (mmol/L) de arteria umbilical; y, el estado vital neonatal, mediante el puntaje del test de V. Apgar al minuto y a los cinco minutos), y las constantes vitales señaladas en la metodología clínica, y las concentraciones plasmáticas de ACTH y beta-endorfina, medidas en pg/ml y pmol/L, respectivamente, y los niveles de beta-endorfina licuoral (pmol/L), según el resultado dado por el radioinmunoensayo, se cotejaron utilizando un AMSTRAD PC1512DD y programas estadísticos apropiados (ABSTAT, EPISTAT). Los tests aplicados para su tabulación y cotejo han sido: Test de rechazo de muestras extremas; estadística básica (media, desviación estándar, error estándar de la media, coeficiente de variación, mediana, moda, valores máximos y mínimos, asimetría y kurtosis); comparación de medias, mediante los test "t" de Student, y cuando se constataron diferencias entre las va-

ADULFO SANCHEZ MARENCO

rianzas (Análisis de la Varianza: ANOVA) se calcularon los grados de libertad por el test de Welch; el test de Mann-Whitney se aplicó para comparación de variables no continuas; análisis y determinación de los coeficientes de correlación "r" de Pearson (método de mínimos cuadrados) entre las variables interrelacionadas; análisis de regresión de orden "N" para establecer o descartar la posible regresión entre cada uno de los neuropéptidos plasmáticos y las variables que según las referencias bibliográficas, podrían influir en sus concentraciones. Se ha utilizado el análisis de regresión múltiple discriminante paso a paso (DRAPEN, 1981) y el proceso de cálculo se ha llevado a cabo (por el Profesor de Bioestadística D. E. SANCHEZ-CANTALEJO RAMIREZ, Facultad de Medicina de la Universidad de Granada) mediante el paquete estadístico BMDP (DIXON, 1983), analizando y correlacionando las concentraciones de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo con la edad gestacional, pH de arteria umbilical, test de Apgar a los 5 minutos, días de vida postnatal y tipo respiratorio (respiración espontánea o mecánica-IMV).

En los resultados se señalan los test aplicados y la valoración estadística. En cada tabla, se hace una referencia al pie de la misma como guía para la comprensión e interpretación de los mismos. Todos los valores se expresan como media \pm error estándar de la media.

RESULTADOS

VALORACION DE LAS CONCENTRACIONES DE BETA-ENDORFINA Y HORMONA ADRENOCORTICOTROPA EN PLASMA DE CORDON UMBILICAL Y RELACIONES CON EL GRADO DE ESTRES INTRAPARTO O DEPRESION VITAL NEONATAL.

El conjunto de recién nacidos (n:47) con una edad gestacional de 39.47 ± 0.18 semanas y 3413 ± 47 gramos de peso al nacimiento, con un grado de acidosis (pH en arteria umbilical) de 7.20 ± 0.01 y una lactacidemia de

TESIS DOCTORAL

RESUMEN

4.39 +/- 0.3 mmol/L, tuvieron unas concentraciones plasmáticas de beta-endorfina (beta-EP) de 25.51 +/- 2.05 pmol/L y unos niveles medios de hormona adrenocorticotropa (ACTH) de 47.03 +/- 3.83 pg/ml.

Los recién nacidos con un grado más intenso de acidosis (n:19) (pH en arteria umbilical inferior a 7.20, valor medio 7.10 +/- 0.01 y unos niveles de lactacidemia de 6.42 +/- 0.43) tuvieron concentraciones de beta-EP y ACTH significativamente más bajas que los recién nacidos (n:23) de un parto espontáneo y eutócico, de características homogéneas para el grado de madurez, según la edad gestacional [39.58 +/- 0.28 semanas versus 39.62 +/- 0.23 semanas (t:0.15, p:NS)] y el peso al nacimiento [3426 +/- 65 gramos versus 3377 +/- 65 gramos (t:0.49, p:NS)], (pH en arteria umbilical superior igual a 7.20, valor medio 7.26 +/- 0.008 y niveles de lactacidemia de 3.01 +/- 0.04 mmol/L); beta-EP: 19.04 +/- 4.28 pmol/L versus 29.87 +/- 1.34 pmol/L (t:2.76, p<0.01) y ACTH: 30.97 +/- 5.60 pg/ml versus 58.21 +/- 3.97 pg/ml (t:3.98, p<0.001). Estas concentraciones de los neuropeptidos analizados se asocian con el grado de depresión vital al nacimiento. Los neonatos con mayores tasas plasmáticas de beta-endorfina y ACTH tuvieron unos rangos del test de Apgar al minuto y a los cinco minutos entre 7-10 y 9-10 puntos, frente al grupo de neonatos con niveles plasmáticos de neuropeptidos más elevados cuyos rangos del test de Apgar fueron de 1-9 y 3-10, respectivamente (el test "U" de Mann-Whitney demostró que la diferencia era significativa, tanto al minuto como a los cinco minutos, con una p<0.01). Los niños con pH de arteria umbilical igual o superior a 7.20, y altas tasas plasmáticas de beta-endorfina y ACTH precisaron una reanimación tipo I o II, en tanto que 6 de los 19 neonatos afectados de una acidosis intraparto más severa (pH de arteria umbilical inferior a 7.20), y bajas concentraciones plasmáticas de estos neuropeptidos recibieron, debido a la importante depresión vital, una reanimación tipo III-IV (el test exacto de Fisher, para comparación de proporciones, resultó estadísticamente significativo, con una p=0.002526).

La lactacidemia de cordón umbilical se co-

relacionó directamente con el pH de arteria umbilical (n:47, r:0.82, p<0.0005; regresión: y=135.43-18.21x).

Se constató una correlación lineal simple y directa de las concentraciones de beta-endorfina y hormona corticotropa del cordón umbilical (n:47, r:0.77, p<0.001; regresión: y=6.11+0.41x).

Los niveles plasmáticos de beta-EP de cordón umbilical se correlacionaron de forma significativa con la edad gestacional (n:47, r:0.46, t:3.50, p<0.001; regresión: y=5.21x-180.72).

Los niveles plasmáticos de beta-endorfina siguen una regresión de orden "N" ("2") con las tasas plasmáticas de lactato (n:47, r=0.76; función o regresión: y=0.14+15.96x-1.86x²).

VALORACION DE LA BETA-ENDORFINA EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO Y CAPACIDAD DE MANTENER MOVIMIENTOS RESPIRATORIOS EN EL PERIODO NEONATAL EN NEONATOS AFECTOS DE UN SINDROME DE "SUFRIMIENTO CEREBRAL" AGUDO-SUBAGUDO.

Las concentraciones medias de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo fueron de 257.67 +/- 40.27 pg/ml. El análisis de regresión múltiple discriminante correlacionando los niveles de beta-endorfinorraquia con la edad gestacional, pH de arteria umbilical, puntaje del test de Apgar, días de vida postnatal y capacidad de mantener movimientos ventilatorios, mostró que la radioinmunoactividad beta-endorfinérgica no estuvo relacionada con la edad gestacional, el puntaje del test de Apgar o los días de vida postnatal, y que guardaba relación con el grado de acidosis que el recién nacido hubiera tenido en el momento del parto (pH de arteria umbilical) y con la capacidad de mantener movimientos respiratorios, según la expresión: Z = - 2726.54 + 393.5X + 190.36Y, siendo Z la concentración de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo; X igual al pH de arteria umbilical; y, donde Y es igual a 1 para aquellos neonatos que mantienen respiración espontánea e Y igual a 0 para los recién nacidos con depre-

sión respiratoria central con soporte ventilatorio (IMV).

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Primera:

Se confirma la existencia de una correlación lineal simple y directa de la beta-endorfina y la hormona adrenocorticotropa, indicando que su procesamiento y secreción adenohipofisarias, en situación de estrés o alarma, son concomitantes.

Segunda:

Los recién nacidos afectados de una depresión intraparto intensa, con acidosis láctica severa, muestran concentraciones plasmáticas de ACTH y beta-endorfina más bajas que los recién nacidos con un estrés normal del paso de la vida intrauterina a la extrauterina.

Tercera:

Las concentraciones plasmáticas de beta-endorfina (y hormona adrenocorticotropa) siguen

una regresión de segundo grado, o función parabólica, con la lactoacidemia. Este hecho abre tres hipótesis de estudio: a) Que el estrés intenso y/o prolongado deplecione la adenohipofisis y, dada la corta vida media de los neuropéptidos analizados, bajen las concentraciones plasmáticas; b) Que la hipoxia severa lesione el eje hipotálamo-hipofisario y se altere profundamente la respuesta secretora adenohipofisaria; y, c) Que el estímulo hipóxico inicial promueva una secreción intensa de hormona adrenocorticotropa y beta-endorfina y, tras la acción corticotropa sobre las glándulas suprarrenales, se establezca un "feed-back" negativo sobre el eje hipotálamo-hipofisario.

Cuarta:

Los niveles de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo de recién nacidos afectados de un síndrome de sufrimiento cerebral agudo-subagudo, fueron más elevados cuanto menor fue el grado de acidosis intraparto y cuando estos neonatos mostraron la capacidad de mantener movimientos respiratorios espontáneos. En este contexto clínico, los niveles de beta-endorfinorraquia pueden reflejar el grado de daño cerebral y tener valor pronóstico.

LINEA DE INVESTIGACION

LINEA DE INVESTIGACION

"ACTH Y SU FAMILIA DE NEUROPEPTIDOS EN RECIEN NACIDOS"

TESIS DOCTORAL

TITULO: "CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA BETA-ENDORFINA EN EL PERIODO NEONATAL".

Autora: Dra. M^a Jesús Mojón Zapata.

Calificación: APTO "cum laude".

Facultad de Medicina. Universidad de Granada. 1986.

Becada por el Ministerio de Educación y Ciencia.

PUBLICACIONES MONOGRAFICAS

** NACIONALES **

"CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL SISTEMA BETA-ENDORFINERGICO EN EL PERIODO PERINATAL".

En: Premios Ordesa 1986 a la Investigación Pediátrica. Barcelona. Ed. Ordesa S.A. 1987:77-238.

** INTERNACIONALES **

"PLASMA BETA-ENDORPHIN CONCENTRATIONS IN NEWBORN INFANTS AND RELATIONSHIP WITH INTRAPARTUM HYPOXIA"

In: Grauel EL, Syllm-Rapoport I and Wauer RR (eds); Research in Perinatal Medicine: An Interdisciplinary Approach. Leipzig VEB Georg Thieme. Leipzig. 1986:267-273.

PUBLICACIONES CIENTIFICAS

(Revistas Científicas, Sumarios, Abstracts y Re-

ADULFO SANCHEZ MARENCO

sumen de Comunicaciones a Congresos, Symposia y Reuniones Científicas)

** NACIONALES **

"CORRELACIONES ENTRE BETA-ENDORFINA, ACTH, pH, LACTACIDEMIA Y GLICEMIA, EN MUESTRAS DE ARTERIA UMBILICAL EN EL "STRESS" DEL PARTO EN RECIEN NACIDOS NORMALES"

Resumen de Comunicaciones. XVI Congreso Español de Pediatría. Madrid. Ed. AEP 1985:161.

"CORRELACIONES ENTRE BETA-ENDORFINEMIA Y BETA-ENDORFINORRA EN EL CURSO DE UNA SEPSIS CON SUFRIMIENTO CEREBRAL EN NEONATOS"

Resumen de Comunicaciones. XVI Congreso Español de Pediatría. Ed. AEP 1985:161.

"EQUILIBRIO EN LA SECRECION DE ACTH Y BETA-ENDORFINA HIPOFISARIA EN RESPUESTA A LA ALARMA PERI-NEONATAL"

An. Esp. Pediatr. 1986; 24(sup-26):34.

"HIPERTONIA DEL SISTEMA BETA-ENDORFINERGICO EN EL SINDROME DE SUFRIMIENTO CEREBRAL AGUDO-SUBAGUDO NEONATAL"

En: Molina Font JA, Galdó Muñoz G, Bayés García R y Narbona López E. (eds): Jornadas de Neonatología. Granada. Ed. Centro de Documentación Uriach, 1986:128-139.

TESIS DOCTORAL

LINEA DE INVESTIGACION

"BETA-ENDORFINA EN EL LIQUIDO CEFA-LORRAQUIDEO COMO RESPUESTA INESPECIFICA EN EL SUFRIMIENTO CEREBRAL NEONATAL"

Libro de Actas (Abstracts). VIII Reunión Nacional de Medicina Perinatal. Madrid. Ed. AEP 1986:129.

"RECIEN NACIDOS PATOLOGICOS CON SINDROME DE SUFRIMIENTO CEREBRAL: Valoración de los niveles plasmáticos de Beta- Endorfina"

Libro de Actas (Abstracts). VIII Reunión Nacional de Medicina Perinatal. Madrid. Ed. AEP 1986:130.

"SISTEMA BETA-ENDORFINERGICO EN EL SINDROME DE ADAPTACION DEL NEONATO SANO Y ENFERMO"

Laboratorio 1987, 83:99-114.

** INTERNACIONALES **

"PLASMA BETA-ENDORPHIN CONCENTRATIONS IN NEWBORN INFANTS AND RELATIONSHIP WITH INTRAPARTUM HYPOXIA"

Abstracts. IV International Berlin Symposium on Infant Mortality. Berlin (GDR), September 1985:68.

"SINDROME DE SUFRIMIENTO CEREBRAL, DEPRESEION RESPIRATORIA Y SISTEMA BETA-ENDORFINERGICO"

Resumen de Comunicaciones. Reunión Anual del Grupo Latino de Pediatría. Pavia (Italia). Mayo 1986:29.

"RESPIRATORY DEPRESSION AND THE ENDORPHINERGIC SYSTEM AFTER INTRAPARTUM ASPHYXIA"

Abstracts. 10th European Congress of Perinatal Medicine. Leipzig (GDR). August 1986:223.

"PLASMA BETA-ENDORPHIN AND ACTH CONCENTRATIONS OF THE HEALTHY NEWBORN INFANTS IN RESPONSE TO PERINATAL STRESS"

International Pediatrics. 1988; 3(3):263-266.

BECAS, AYUDAS, PREMIOS DE INVESTIGACION

"BECA DEL MINISTERIO DE EDUCACION Y CIENCIA"

(Becaria, Dña M^a J. Mojón Zapata; BOE 22 de enero de 1985/1494: Universidad de Granada, nueva adjudicación, convocatoria 1984- Programa General), sobre el tema:

"BETA-ENDORFINA EN EL CONTROL RESPIRATORIO NEONATAL".

Departamentos de Pediatría y Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, 1985-1986.

"BECA DE LA FUNDACION HEINZ KOCH", para la realización de un PROYECTO DE INVESTIGACION:

"BETA-ENDORFINA EN EL CONTROL RESPIRATORIO DEL RECIEN NACIDO"

Departamentos de Pediatría y Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada (1984-1986).

"PREMIO NACIONAL DE INVESTIGACION EN NEONATOLOGIA 1986", otorgado por la Sección de Neonatología de la Asociación Española de Pediatría (A.E.P), patrocinado por Ordesa S.A., por la realización de un TRABAJO DE INVESTIGACION, titulado:

"CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL SISTEMA BETA-ENDORFINERGICO EN EL PERIODO NEONATAL".

Realizado en los Departamentos de Pediatría y Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

TESIS DOCTORAL

ADULFO SANCHEZ MARENCO

INTRODUCCION

INTRODUCCION

ANTECEDENTES HISTORICOS

La existencia de sustancias con actividad opiácea y sus efectos en los animales y en el hombre se conocen desde hace siglos. Originalmente se emplearon por sus efectos sobre el sensorio. Mas tarde demostraron ser unos potentes analgésicos, ser útiles para reducir la motilidad intestinal y tener profundos efectos sobre la respiración, la circulación y el humor. Un rasgo extraordinario de algunos de estos compuestos biológicamente activos es la elevada potencia requerida para producir un efecto, sugiriendo ello que tendría que existir un lugar o receptor de una afinidad muy alta y específica. El desarrollo de agonistas y antagonistas estereoespecíficos, relativamente puros como la naloxona, apoyaron esta hipótesis (GUYTON, 1978).

La principal evidencia que sugería la existencia de opióides endógenos, fue aportada por el hecho de que la estimulación eléctrica de áreas de la sustancia gris del mesencéfalo y sustancia gris periventricular producía analgesia que era anulada con naloxona (AKIL, 1976).

La sugerencia llegó a ser una realidad cuando PERT y SNYDER en 1973 demostraron la existencia de receptores opióides en el cerebro de los animales que no se unían a ningún neurotransmisor clásico y tenían una gran especificidad. Se desencadenó una intensa investigación en la búsqueda del ligando endógeno. En 1974, dos laboratorios, simultánea pero independientemente, publicaron el descubrimiento de extractos cerebrales con actividad opióide (TERENIUS, 1974; HUGHES, 1975a). Posteriormente HUGHES y col. (1975b) purificaron y caracterizaron dos péptidos opió-

des a los que denominaron encefalinas (met-enkefalinas) y leucina-encefalina (Leu-encefalina). En el año siguiente, LI y col. (1976) aislaron y caracterizaron un compuesto de 31 aminoácidos con actividad opióide en la hipófisis de camellos y lo llamaron beta-endorfina (beta-EP). Se observó que los primeros cinco aminoácidos de este péptido principal eran los mismos que la secuencia de la met-enkefalina, y aún más sorprendentemente, que la secuencia entera de la beta-EP era la misma que la de la beta-lipotropina₆₁₋₉₁ (beta-LPH), un compuesto biológicamente inerte aislado de la hipófisis y también descubierto por LI y col. diez años antes (LI, 1965).

En los años siguientes al descubrimiento de estas sustancias se han desarrollado técnicas altamente sensibles, selectivas y específicas, que por tanto pueden ser aplicadas en estudios rigurosos. Estas técnicas incluyen: 1) técnicas histológicas para el mapeo, caracterización y compartimentalización de la localización de los compuestos opióides *in vitro*, 2) bioanálisis para determinar y comparar la actividad de los compuestos opióides endógenos, 3) modelos animales y humanos para valorar los efectos fisiológicos *in vivo*, 4) isómeros ópticos de los compuestos opióides activos e inactivos, 5) alcaloides opiáceos radiomarcados para estudios de unión a receptores y 6) antagonistas estereoespecíficos puros de la actividad opióide.

La investigación en este área ha sido muy intensa incluyendo todos los niveles de la ciencia médica, dando como resultado la demostración de varias sustancias biológicas con actividad similar a la morfina en todos los vertebrados examinados, incluido el hombre, pero no en los invertebrados.

ADULFO SANCHEZ MARENCO

TESIS DOCTORAL 1

INTRODUCCION

Mediante técnicas de clonaje y estudio de las secuencias de nucleótidos de las moléculas de cDNA y mRNA que codifican la información para la síntesis de las diversas moléculas (NUMA 1981) se han individualizado tres familias de "morfina endógenas":

a) Encefalinas, cuya molécula precursora, la proencefalina (proproencefalina), contiene en su secuencia de aminoácidos cinco moléculas de Met5-encefalina, una Leu5-Arg6-Gly7-Leu8-encefalina. El inicio y el final de cada molécula se encuentra flanqueado por parejas de aminoácidos básicos (Lys y Arg) sobre los que ejercen su acción las enzimas proteásicas (GUBLER 1982, COOMB 1982, NODA 1982).

b) La beta-endorfina (beta-EP) y moléculas afines, se derivan de la pro-opiomelanocortina (POMC), de 31K, compuesta de 264 aminoácidos, que contiene la secuencia de la beta-EP, la ACTH y la MSH (LI 1976, NAKANISHI 1979).

c) La tercera familia, constituida por la dinorfina y los péptidos afines o análogos, cuya molécula precursora, la pro-dinorfina (o pro-encefalina B) contiene varias moléculas de alfa-neo-endorfina y de dinorfina y tres de Leu5-encefalina (KAKIDANI 1982, FISCHLI 1982, ROSSIER 1982).

ESTRUCTURA QUIMICA Y MOLECULAS PRECURSORAS

Las endorfinas, en número de tres, fueron identificadas en 1976 como péptidos mayores: la alfa-endorfina (alfa-EP), formada por 16 aminoácidos, la beta-EP por 31 aminoácidos y la gamma-endorfina (gamma-EP) por 17 aminoácidos. El análisis químico muestra también que la secuencia de aminoácidos de la alfa y gamma-EP representan productos de la división de la molécula mayor de beta-EP (AUSTIN 1977). Se había observado que los 31 aminoácidos de la beta-EP aparecen en el orden exacto en la secuencia inicial de un gran polipéptido: la beta-

lipotropina (beta-LPH). Esta molécula había sido localizada en la hipófisis por LI et al. en 1964 y comprobada por otros autores (BRADBURY 1976, LING 1976), antes incluso del descubrimiento de las encefalinas.

En 1977 los investigadores norteamericanos MAINS Y EIPPER demostraron que la beta-lipotropina estaba contenida, a su vez, en una molécula mucho mayor a la que denominaron proopiomelanocortina (POMC).

Mediante operaciones de ingeniería genética, varios investigadores entre los que destacan NAKANISHI y col. (1979), y LI (1976) pudieron dar a conocer la secuencia de aminoácidos de la POMC. Esta proteína, de 264 aminoácidos, contiene las cadenas de numerosas hormonas: por una parte la beta-LPH, cuya secuencia molecular es de 91 aminoácidos (LI 1965, 1976), que a su vez contiene las secuencias correspondientes a la beta-EP y Met5-encefalina, y por otra la corticotropina o ACTH, hormona que aparece en la hipófisis anterior y cuya función es estimular las glándulas suprarrenales; y por último tres tipos de hormonas melanotropas (o MSH), hormonas que también aparecen en la hipófisis y cuyas funciones, hasta el momento actual, son poco conocidas. Estas tres variedades de MSH son la alfa-MSH, la beta-MSH, y la gamma-MSH.

BIOSINTESIS

NUMA et al. en 1981 publicaban la significación biológica de la POMC como precursor de múltiples hormonas. Este precursor podría liberar, según la zona del organismo y según las necesidades, diferentes combinaciones de las hormonas que contiene.

Tanto en el cerebro como en la hipófisis, la beta-EP se sintetiza como parte de una gran molécula 31 K. En la hipófisis anterior, la producción enzimática del precursor se basa principalmente en beta-EP, beta-LPH y ACTH con poca o ninguna alfa-MSH (STARK 1983).

ADULFO SANCHEZ MARENCO

En especies como la rata que posee un lóbulo intermedio bien definido (ausente en el adulto humano) existe un patrón de síntesis diferente, con la producción de poca o ninguna beta-LPH y formas más cortas de beta-EP que poseen escasa actividad biológica. El lóbulo intermedio, a diferencia del lóbulo anterior, también produce cantidades importantes de alfa-MSH. La liberación de los gránulos donde estos péptidos se almacenan está, en parte, controlada por nervios adrenérgicos que innervan directamente la pars intermedia (TILDERS, 1977). En el lóbulo anterior los productos de mayor secreción son la ACTH, la beta-LPH y en menor nivel la beta-EP. La actividad secretora se encuentra bajo el control del sistema nervioso central, mediado por el factor liberador de corticotropina a través del sistema portal hipotálamo-hipofisario (VALE, 1981).

En el feto humano, existe un lóbulo intermedio hipofisario que va desapareciendo a medida que el feto se acerca al término (VISSER, 1979), y los estudios sobre la ontogenia de la beta-EP son contradictorios. Algunos autores detectan la presencia de beta-EP (SILMAN, 1976) y beta-LPH (BRUBAKER, 1982) en la hipófisis de fetos en la undécima semana de gestación, en los que también es demostrable la ACTH. Datos inmunohistoquímicos han demostrado una tinción positiva para la beta-EP tan temprana como la séptima semana (DUBOIS, 1973). La gamma-EP, un producto del clivaje de la beta-EP, presente en las membranas sinaptosomiales del cerebro y en la hipófisis del adulto (GIBBS, 1982), no se ha encontrado en los embriones que se han estudiado, lo que sugiere que el sistema enzimático de la POMC necesita procesos de maduración a lo largo de la vida intrauterina para tener una expresividad completa.

Se acepta que durante la vida fetal la POMC hipofisaria sufre dos etapas sucesivas de clivaje. La primera produce ACTH y beta-LPH, y un posterior clivaje de estos péptidos da lugar a la alfa-MSH y beta-EP (SILMAN, 1976). Este segundo paso de procesamiento de la POMC es típico del lóbulo intermedio de la hipófisis de la

rata (PRZEWLOCK, 1979), bien definido durante la vida fetal. Sin embargo en la hipófisis de los fetos y embriones, FACCHINETTI (1987), encontró que la beta-LPH era el péptido predominante y la razón beta-LPH/beta-EP aumentó hasta el final del segundo trimestre, sugiriendo que la primera etapa de clivaje de la POMC era más activa durante ese periodo de vida.

GIBBS y col. (1982) demostraron que la hipófisis fetal adquiere capacidad de respuesta al factor liberador de corticotropina (CRF) tras la vigésima semana de embarazo. Además comprobaron que en el lóbulo intermedio solo se libera beta-EP en respuesta a la despolarización de las células con cloruro potásico y no con dopamina o CRF. Así, el mayor pico de beta-LPH obtenido de la hipófisis antes del final del segundo trimestre, puede ser interpretado como originado en el lóbulo anterior.

FACCHINETTI y col. (1987) mantienen que el patrón enzimático de clivaje de la POMC existe desde la etapa embrionaria, siendo similar al existente en el adulto y que la actividad funcional del lóbulo anterior parece tener mayor preponderancia que la del lóbulo neurointermedio en torno a la vigésimoquinta semana de gestación.

ALLEN y col. (1985) estudiando la ontogenia de la ACTH también concluyeron que el lóbulo anterior madura antes que el intermedio.

Se ha demostrado que la actividad de beta-EP en el plasma humano está elevada o disminuida en las mismas circunstancias en que lo está la ACTH. Ambas aumentan en situaciones de estrés (GUILLEMIN, 1977; COHEN, 1983), enfermedad de Addison (KRIEQUER, 1979), adrenalectomía (GUILLEMIN, 1977), administración de metirapona (NAKAO, 1978), hipoglucemia (EVANS, 1986) y tumores productores de ACTH (HALE, 1986) y descienden con la administración de glucocorticoides (GUILLEMIN, 1977; KRIEQUER, 1979) y la hipofisectomía.

También se ha comprobado que en los adultos, la beta-EP guarda un ciclo circadiano

INTRODUCCION

coincidente con el del cortisol y la ACTH (MULLEN, 1979; DENT, 1981) y tanto la ACTH como la beta-EP se liberan tras la administración del factor liberador de corticotropina (VALE, 1981).

Todos estos hechos sugieren que la beta-EP del plasma periférico, tiene un origen hipofisario y se libera a la circulación sistémica concomitantemente con la ACTH.

DISTRIBUCION DE PEPTIDOS

OPIOIDES

Los estudios de distribución, tanto de los receptores como de los péptidos opioides son de particular importancia, dado que su localización en áreas específicas permite deducir una probable funcionalidad.

Combinando técnicas de radioinmunoanálisis e inmunohistoquímicas realizadas en extractos tisulares, se ha visto que en el cerebro, el sistema beta-endorfinérgico está constituido por cuerpos celulares que se originan en el hipotálamo y proyectan largos axones a través de la pared del tercer ventrículo y del tronco de encéfalo (BARCHAS, 1978; BLOOM, 1978; GRAMSH, 1979; ZAKARIAN, 1982).

Más específicamente, se han identificado grupos celulares conteniendo actividad de beta-EP en el núcleo arcuato y en la región periacuata del hipotálamo basal (BLOOM, 1978). Desde estos grupos celulares se extienden fibras y terminales hasta la eminencia media, el septo, la región periventricular del tálamo y el tronco del encéfalo. Dentro de este último se han identificado fibras con inmutividad beta-endorfínica en la sustancia gris periacueductal y varios núcleos de la línea media, incluyendo el locus ceruleus (BLOOM, 1978). Las áreas del cerebro con mayor concentración de beta-EP son el núcleo arcuato del hipotálamo y la sustancia gris periacueductal.

La hipófisis está conectada con el cerebro a través del infundíbulo y se localiza fuera de la barrera hematoencefálica. En la hipófisis de la rata, la beta-EP se encuentra en mayor cantidad en el lóbulo intermedio, en menor cantidad en el lóbulo anterior y en muy pequeña cantidad o incluso es indetectable en el lóbulo posterior (ROSSIER, 1977; ZAKARIAN, 1982). En el hombre adulto, que no tiene lóbulo intermedio, la beta-EP se encuentra fundamentalmente en el lóbulo anterior de la hipófisis (GRAMSH, 1979), y la concentración total de beta-EP es mucho mayor en la hipófisis que en el hipotálamo.

También se ha detectado actividad de beta-EP en el líquido cefalorraquídeo (JEFFCOATE, 1978; NAKAO, 1980; SCHLACHTER, 1983; ORLOVSKI, 1986), placenta humana, líquido amniótico (DEMURA, 1982; LOTT, 1982; LIOTTA, 1977; TUIMULA, 1976), páncreas y antro gástrico (FEURLE, 1980), ovarios (LOLAIT, 1985; AUTELITANO, 1986; ALEEM, 1987) y testículos (SHARP, 1980).

En la tabla I se hace una recopilación de la distribución de beta-EP en el organismo.

RECEPTORES OPIOIDES

La interrelación entre los agonistas y antagonistas conocidos, así como el concepto de receptor se originó hace más de cien años (LANGLEY, 1978). Hacia 1948, AHLQUIST propuso la existencia de subclases de receptor específico, los receptores adrenotrópicos, y los designó con el nombre de alfa y beta (AHLQUIST, 1948). El descubrimiento de los receptores opioides (PERT, 1973) y la identificación cualitativa de sus subclases se realizó inmediatamente (MARTIN, 1976).

El mapeo de la distribución regional de los lugares de unión a los opiáceos estereoespecíficos del cerebro puede poner de manifiesto la relación entre la localización y la función regional y cerebral. Esta hipótesis se ha basado en las observaciones de MARTIN y col. sobre las

TABLA I: DISTRIBUCION DE LA β -ENDORFINA EN EL ORGANISMO

HIPOFISIS	CEREBRO	OTROS TEJIDOS
HUMANO	HUMANO	HUMANO
Lóbulo anterior (β -EP ₁₋₃₁) (?)	Nucleo caudado Tálamo Amígdala	Tracto gastrointestinal Páncreas Glándula tiroides
Lóbulo posterior	Hipotálamo (β -EP ₁₋₃₁) Area postrema Bulbo olfatorio (β -EP _{1-26/1-27}) Cuerpos mamilares Sustancia Negra Sustancia gris periacueductal Puente dorsal Médula oblonga	Placenta Líquido cefalorraquídeo Líquido amniótico Ovarios
RATA	RATA	RATA
Lóbulo anterior (β -EP ₁₋₃₁)	Nucleo accumbens Tálamo	Testículos Próstata
Lóbulo interm. β -EP _{1-26/1-27}	Locus ceruleus Sustancia gris periacueductal Formación reticular	Vesículas seminales

INTRODUCCION

modificaciones neurofisiológicas y en la conducta del perro espinal crónico, que sugirieron la existencia de al menos tres tipos diferentes de receptores opiáceos para explicar las diferentes respuestas farmacológicas de los diversos opiáceos (MARTIN, 1976).

A pesar de que la distribución es muy amplia, la localización de los receptores se puede resumir en tres sistemas principales, sensorial, sistema límbico y neuroendocrino.

Los sistemas aferentes de la médula y del troncoencéfalo tienen una alta densidad de receptores opiáceos, con una mayor cantidad en la sustancia gris que en la blanca. La densidad es específicamente elevada en las células de la zona marginal y en la capa dorsal de la sustancia gelatinosa, la cual en las porciones inferiores de la médula se continúa con la vía espinal descendente del nervio trigémino (WAMSLEY, 1982). Estas áreas son importantes en el procesamiento de la información sensorial. Reciben las aferencias primarias terminales de las fibras C pequeñas no mielinizadas, y las fibras mielinizadas A delta, las cuales tienen gran importancia en la transmisión de sensaciones específicas como el dolor y la temperatura (KEIR, 1975). La función, en la percepción del dolor, atribuida a estos receptores opiáceos está basada en la analgesia segmentaria que se produce tras la inyección de morfina en el canal espinal en los animales y en el hombre (DIRKSEN, 1980). Es más, la ausencia de receptores opiáceos en las áreas de la médula espinal y de la médula oblonga, que sólo reciben grandes fibras aferentes mielinizadas, sugiere que estas neuronas sensoriales mayores transmiten información sensorial que no se afecta por los compuestos opiáceos ni opiáceos. En efecto, estas neuronas son transmisoras de la vibración, la posición y la sensibilidad fina y, ninguna de ellas se modifica con los compuestos opiáceos.

En las porciones más cefálicas de la médula, las fibras aferentes del vago y sus terminales en el núcleo del tracto solitario y el núcleo comisural, son muy ricas en receptores opiáceos (WANSLEY, 1982). La vagotomía, disminuye la

densidad de estos receptores opiáceos en todo el sistema vagal, lo cual implica que tienen una participación activa en la actividad vagal aferente (ATWEH, 1977a). Las altas concentraciones de receptores opiáceos en el área postrema pueden explicar los efectos secundarios de náuseas y vómitos asociados con los opiáceos (ATWEH, 1977a) y estar en relación con el mecanismo por el que las drogas opiáceas ejercen su acción sobre funciones autonómicas del troncoencéfalo como la frecuencia cardíaca, respiratoria y presión arterial (AKIL, 1976; MARTIN, 1976; LAUBIE, 1977).

Las áreas del sistema límbico del cerebro medio que contienen mayores concentraciones de receptores opiáceos, incluyen el complejo núcleo amigdalino y los ganglios basales (ATWEH, 1977c). Estas áreas son importantes en la regulación de la conducta, el control motor asociado con las enfermedades convulsivas y las enfermedades neuropsiquiátricas del adulto, aunque no se ha determinado si están implicadas en las enfermedades motoras o de la conducta en la edad pediátrica.

Existen receptores opiáceos en el lóbulo posterior de la hipófisis y en los núcleos hipotálamicos supraóptico y paraventricular que se relacionan con él (WANSLEY, 1982). Los receptores opiáceos también son abundantes en el infundíbulo del hipotálamo, desde donde ejercen sus efectos neuroendocrinos los opiáceos endógenos y modifican las funciones vegetativas, tales como la conducta alimentaria o los ritmos diurnos (HOLADAY, 1981).

Los receptores opiáceos están también presentes en las neuronas simpáticas periféricas y en el sistema nervioso autonómico periférico, como el ganglio cervical superior, donde pueden tener efectos similares en la supresión de la transmisión ganglionar (MACHOVA, 1983). En el ileon del conejillo de Indias, CREESE y col. (1975) demostraron que los péptidos opiáceos inhibían las contracciones inducidas eléctricamente por su unión a los receptores opiáceos del plexo mioentérico en un modelo dosis-dependiente. Esto sugirió un probable lugar de acción para los péptidos opiáceos sobre los

nervios que inervan el músculo liso, y por tanto afectarían la motilidad intestinal; sin embargo, esta observación ha sido más útil para el bioensayo in situ de los compuestos con actividad morfínica. Los vasos deferentes del ratón también han mostrado tener esta capacidad. Las funciones de los receptores opiáceos en las divisiones simpáticas y parasimpáticas del sistema nervioso autónomo permanecen sin aclarar. Se piensa que puedan tener alguna función neuromoduladora en los ganglios autónomos implicados en la comunicación por medio de señales generadas por interneuronas en un medio similar al de la médula adrenal, y de este modo podrían influir sobre la conducción sináptica y, por lo tanto, sobre la actividad en el órgano final.

FARMACOLOGIA

Los compuestos agonistas, antagonistas y mixtos, caracterizan los patrones de respuesta puestos de manifiesto por los ligandos con actividad simil-morfina que se unen a los receptores opiáceos. Cambios estructurales menores, como la sustitución de un N-allyl por un N-metil pueden transformar un agonista en un antagonista o en un compuesto con función mixta. A pesar de que el pH óptimo de unión al receptor opiáceo es relativamente amplio (rango entre 6.5 y 8), la adición de una pequeña cantidad de sodio al medio de ensayo, aumenta la unión de los antagonistas (PERT, 1974). Las características de este mecanismo de unión dependiente del sodio son controvertidas, pero parecen estar relacionados con un efecto alostérico del sodio sobre los receptores opiáceos.

También se ha visto que el etanol aumenta la densidad de los lugares de unión al receptor opiáceo. El alcohol realiza este efecto mediante la inhibición selectiva en la unión de los agonistas específicos a ciertas subclases de receptores opiáceos (HILLER, 1981). La densidad de las subclases de los receptores opiáceos está también influenciada selectivamente por la presencia del mismo ligando opiáceo, el cual puede

ADULFO SANCHEZ MARENCO

INTRODUCCION

tener importancia fisiológica como un mecanismo de "feed-back" que controla la función mediante cambios en la cantidad del receptor.

SUBCLASES DE RECEPTORES

El concepto de receptor opiáceo múltiple fue introducido por MARTIN y col. (1976). Su existencia se enfrenta con las observaciones descritas por ALHQUIST (1984) sobre los receptores adrenérgicos. El concepto de Martin está basado en las respuestas cualitativas puestas de manifiesto tras la administración de diferentes compuestos opiáceos a humanos y a perros con una sección medular. Creyó que sus observaciones podían ser mejor explicadas por la existencia de al menos tres tipos de receptores opiáceos distintos a los que denominó "mu", "kappa" y "gamma". Sin embargo su concepto sobre receptores no se correlacionó directamente con estudios posteriores sobre la unión a receptores opiáceos endógenos, ya que se ha descrito la unión preferencial de los péptidos simil-morfina y opiáceos a tejidos específicos y a localizaciones de membrana de alta afinidad (receptores "mu" y "delta"), aunque en principio en un modelo dosis-dependiente (LORD, 1977).

Por otro lado, el concepto de receptores opiáceos múltiples, está sustentado en la observación de una diferente unión y tolerancia en los vasos deferentes del ratón, un lugar en el que el tipo de receptor predominante es del tipo delta, con sensibilidad para las encefalinas y no antagonizado por la naloxona, y en el ileon del conejillo de Indias, un receptor "mu", con relativa sensibilidad a la morfina y reversibilidad de los efectos narcóticos con naloxona, y sin ligando natural conocido (SCHULZ, 1980).

La beta-EP no distingue entre el receptor del ileon de cobaya y el de los vasos deferentes del ratón, interactuando de igual forma con ambos receptores y tiene una gran sensibilidad por los receptores "épsilon", muy abundantes en la rata (WUSTER, 1981).

La dinorfina se ha mostrado como un potente agonista de los receptores kappa (CHAVKIN, 1982). Una subclasificación mayor de los

TESIS DOCTORAL 7

INTRODUCCION

receptores opioides se ha sugerido también por la descripción de lugares de alta afinidad y de baja actividad, basándose en la sensibilidad diferente para un receptor antagonista opióide irreversible (PASTERNAK, 1980). También se ha sugerido una subclasificación más amplia de los receptores opiáceos, al describirse lugares de alta y baja afinidad, basados en su diferente sensibilidad a un antagonista irreversible de los receptores opiáceos (PASTERNAK, 1980). Por lo tanto, se ha sugerido que estos lugares de unión a opiáceos de baja actividad son de hecho, receptores delta que pueden mediar la depresión respiratoria (ZHANG, 1980). Esta hipótesis es particularmente atractiva si se considera la posibilidad del desarrollo diferencial de los receptores opioides y su implicación en la regulación de la circulación y respiración neonatal (LAGAMMA, 1983).

Análisis autorradiográficos han establecido una distribución para los receptores opioides similar a la observada en la inducción por opiáceos (GOODMAN, 1980). Los agonistas selectivos "mu" son analgésicos más potentes que los delta. Por lo tanto, las áreas del cerebro asociadas con la percepción del dolor, como la sustancia gris periacueductal, son muy ricas en receptores "mu". De igual forma, las zonas del sistema límbico ricas en receptores delta como la amígdala están asociadas con la actividad convulsiva, la cual podría ser el resultado de una excesiva administración de agonistas delta (FRENK, 1978).

Al observar áreas de solapamiento, con receptores "mu" y "delta", la respuesta observada no es tan clara. Sin embargo, los receptores "mu" y "delta" de los núcleos del troncoencéfalo, de importancia crítica en la regulación cardio-respiratoria, como el núcleo ambiguo o el tracto solitario, pueden explicar parcialmente los mecanismos por los que los fármacos opioides pueden deprimir la respiración o influenciar la función cardiovascular (LAUBIE, 1977). La asociación de receptores "mu" y "delta" en la médula espinal también sugiere que el sistema opióide puede jugar un papel en las sinapsis de las neuronas aferentes espinales (fibras A-delta y C), las cuales también son importantes en los

reflejos cardiorespiratorios periféricos (BELL, 1977).

La autorradiografía también ha localizado receptores "kappa" en áreas de la corteza diferentes a los receptores "mu" y "delta" (FOOTE, 1982). También se ha encontrado una regionalización discreta para los receptores gamma (WOLOZIN, (1982).

CATABOLISMO DE LA BETA-ENDORFINA

La actividad biológica de la beta-EP (beta-LPH 61-91) depende de su estructura química. La eliminación o extracción de la tirosina del fragmento N-terminal se traduce en una baja actividad opiácea, fundamentalmente de los receptores sensibles a la naloxona y menor potencia analgésica. Los fragmentos cortos de endorfina en el fragmento C-terminal como la alfa-endorfina (beta-LPH 61-76) o gamma-endorfina (beta-LPH 61-77) tienen una escasa actividad opiácea (LING, 1977).

La extracción de la tirosina N-terminal de la gamma-endorfina produce des-tyr-gamma-endorfina, una secuencia peptídica sin actividad opiácea y con potentes efectos neurolépticos (KIRALY, 1981). La regulación de las cantidades de estas endorfinas y sus des-tyr-derivados, y los mecanismos de inactivación de estas sustancias tan solo han sido inicialmente examinados.

Varios estudios, utilizando homogeneizados crudos de cerebro y de hipófisis, han demostrado que la beta-LPH sería el origen de los fragmentos antes mencionados (SUMHAR, 1979; GRAF, 1979). Bajo la acción de un enzima lisosomal, la catepsina D, capaz de hidrolizar tanto la beta-LPH como la beta-EP en la unión peptídica correspondiente al punto Leu77-Phe78. La hidrólisis de la beta-EP produce gamma-EP.

La importancia de estas observaciones ha sido puesta en duda por BURBACH y col. (1980a), quienes han señalado que el pH ácido óptimo de acción de este enzima, así como su localización subcelular lisosómica, hacen improbable su intervención en los procesos relacionados con los depósitos de beta-EP "in vivo". Estos mismos autores han descrito un enzima con una especificidad de acción hidrolítica similar en el mismo enlace peptídico Leu77-Phe78, que se hallaría en el plasma de las membranas sinápticas (BURBACH, 1980b). Este enzima tiene un pH neutro óptimo y no es sensible a la peptatina, un inhibidor de la catepsina.

SUHMAR y col. (1979) han estudiado las propiedades de la catepsina B cerebral, la cual es capaz de hidrolizar la beta-LPH y producir un péptido similar en tamaño a la beta-LPH (1-77), pero cuya identificación no está totalmente establecida. La catepsina B, se encuentra en altas concentraciones en hipófisis de rata al igual que la beta-LPH y por ello sugieren que pueda jugar un papel importante en el procesamiento de la misma. Sin embargo ponen en duda el que tenga algún papel regulador en la génesis de fragmentos endorfinicos, dado su origen lisosomal.

El origen de la des-tyr-gamma-endorfina ha sido estudiado por HERSH y col (1980), quienes han purificado una aminopeptidasa soluble de cerebro de rata que presenta una alta afinidad por la Met-encefalina. Esta enzima liberaría tirosina de las alfa, gamma y beta-endorfinas. Bajo determinadas condiciones, la tasa de liberación de tirosina es mayor para la Met-encefalina; la gamma y alfa-endorfinas también dan altas tasas de tirosina, mientras que se sabe que la beta-EP es relativamente resistente a la aminopeptidasa.

MECANISMO DE ACCION

La beta-EP y la encefalina son péptidos opiáceos que se almacenan en el tejido neuro-

ADULFO SANCHEZ MARENCO

nal. Se supone que los péptidos opiáceos endógenos actúan como neurotransmisores o neuromoduladores, puesto que han demostrado reunir algunos, aunque no todos, criterios de los neurotransmisores clásicos. Entre las características que poseen se incluyen las siguientes: 1) presencia en las terminales nerviosas de las sinapsis, 2) liberación por despolarización de las terminales nerviosas, 3) rápida inactivación por aminopeptidasas, 4) síntesis activa en las neuronas, 5) presencia en las vías y cuerpos celulares específicos y 6) múltiples análogos y antagonistas estructurales estereoespecíficos. Sin embargo, los opiáceos no presentan un mecanismo de recaptación que limite su actividad en las uniones sinápticas. Por otra parte, la rápida inactivación de los opiáceos por las peptidasas locales, indica que el mecanismo de recaptación puede no ser necesario para impedir la reconstrucción del péptido en el receptor.

Existen dos formas principales por las que estos péptidos opiáceos pueden actuar como mensajeros bioquímicos e influir sobre la función neurohumoral: 1) como neurotransmisores funcionantes en las sinapsis específicas, o 2) en un contexto más global, circulando como hormonas. El papel de las encefalinas en la secreción de la médula suprarrenal (VIVEROS, 1982) es el ejemplo mejor estudiado del primer mecanismo, mientras que la liberación conjunta de la beta-EP con la ACTH desde la hipófisis anterior (GUILLEMIN, 1977) ilustra la acción hormonal del último péptido.

ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y FISIOLÓGICA DE LOS OPIOIDES ENDOGENOS

Tanto en el hombre como en animales de experimentación, se han demostrado una amplia variedad de acciones de la beta-EP sobre diferentes órganos y sistemas.

TESIS DOCTORAL 9

INTRODUCCIÓN

ACCIONES NEUROENDOCRINAS

La alta concentración de receptores opioides, encefalinas y endorfinas en la hipófisis y en el hipotálamo, sugiere que pueden jugar un papel importante en la regulación neuroendocrina.

La mayoría de los estudios en neuroendocrinología opióide se ha llevado a cabo utilizando encefalinas modificadas o su antagonista opiáceo, la naloxona, y examinando los efectos de su administración sobre las hormonas circulantes (GROSSSMAN, 1983). Sin embargo, se ha visto que la modificación de los esteroides puede alterar su estereoquímica y su unión relativa a diferentes subclases de receptores opioides. Así, la [D-Ala²-MePhe⁴, Met.^(O)5-ol] encefalina (DAME, FK 33-824) se ha usado ampliamente en investigación de opioides, pero alteraciones estructurales le han llevado a una activación preferente, aunque no exclusiva de los receptores "mu", frente a los receptores "delta" de las encefalinas naturales (KOSTERLITZ, 1980). Esto complica cualquier interpretación de las poblaciones de receptores neuroendocrinos.

Con la naloxona también surgen problemas. A menudo se acepta que es un antagonista opióide puro, pero se ha visto que bajo determinadas condiciones puede asumir propiedades agonistas, e interactuar con receptores de otros neurotransmisores como el GABA, especialmente a las altas dosis a las que se usa en los estudios sobre receptores opioides, de relativa insensibilidad a la naloxona (SAWY-NOK, 1979).

En la Tabla II se presenta un resumen de los efectos de los opioides en la liberación hormonal (PFEIFFER, 1984).

EFFECTOS SOBRE EL EJE HIPOTALAMO HIPOFISARIO

Hormona adrenocorticotrópica (ACTH)

Los efectos conocidos de los agonistas

opiáceos sobre el eje hipotalámico-hipofisario-suprarrenal, varían considerablemente dependiendo de la especie estudiada. En las ratas, los ratones y los perros, pero no en el humano, se ha demostrado que los opiáceos endógenos aumentan los niveles de cortisol (MAYER, 1981; DE SOUZA, 1983) y se piensa que actúan predominantemente sobre el hipotálamo más que sobre la hipófisis o las suprarrenales (BUCKINGHAM, 1982).

El papel fisiopatológico de los opioides en el síndrome de Nelson y en la enfermedad de Addison es controvertido. TOLIS y col. (1982) observaron una disminución de la ACTH plasmática tras la inyección de 0.4-0.8 mg. de naloxona, mientras que ALLOLIO y col. (1982) apreciaron un aumento de la concentración de ACTH tras la administración de 4 mg. de naloxona.

En la enfermedad de Cushing la respuesta de la ACTH a la naloxona o al FK 33824, fue abolida en un estudio realizado por ALLOLIO (1982), mientras que GAILLARD y col (1981) habían observado una disminución de la ACTH en tres de los nueve pacientes a los que se les administró FK 33824.

Hormona luteinizante (LH)

La capacidad de los opiáceos para inhibir la ovulación y la liberación de la LH está bien establecida. El bloqueo del sistema opióide endógeno con el antagonista opiáceo naloxona causa un aumento de LH (BRUNI, 1977).

Los opioides probablemente actúan a nivel hipotalámico por supresión de la liberación de la hormona liberadora luteinizante (LH-RH). Estos opioides no modifican la liberación de la LH en hipófisis aisladas in vitro ni inhiben la acción de la LH-RH in vivo (CICERO, 1979)

Los efectos de los opioides dependen de variables tales como la edad, el sexo, los niveles de esteroides sexuales y la especie estudiada. La naloxona aumenta la LH en ratas hembras prepuberales (BLANK, 1979), pero no tiene ningún efecto sobre las ratas macho pre-

TABLA II . RESUMEN DE LOS EFECTOS DE LOS OPIOIDES ENDOGENOS EN LA LIBERACION HORMONAL. LA PARTICIPACION DEL NEUROTRANSMISOR NO HA SIDO DEFINITIVAMENTE ESTABLECIDA. EL FACTOR LIBERADOR INDICADO PUEDE SER ESTIMULADO DIRECTAMENTE O A TRAVES DE OTRO NEUROTRANSMISOR (PFEIFFER, 1984).

HORMONA	ACCION DEL OPIOIDE	ACCION DE LA NALOXONA	NEUROTRANSMISOR IMPLICADO	FACTOR LIBERADOR	LUGAR DE ACCION
ACTH	A (rata, perro) D (hombre)	A (rata, humano)	Histamina	CRF	Hipotálamo
			Noradrenalina	Vasopresina	
LH	D	A	Adrenalina Noradrenalina	LH-RH	Hipotálamo
GH	A	Ninguno en la liberación basal	Acetilcolina	GRF	Hipotálamo
			Histamina (rata hombre) Adrenalina, Noradrenalina (rata)		¿Hipófisis?
PRL	A	D (rata) Ninguno	Dopamina	¿Somatostatina?	Hipotálamo ¿Hipófisis?
TSH	A D	Ninguno (hombre)	Serotonina	TRH	Hipotálamo ¿hipófisis?
OXITOCINA	D	A			
INSULINA	A	Ninguno	¿Somatostatina?		Islotes pancreat.
GLUCAGON					
SOMATOSTATI.	D	Ninguno			Islotes pancreat.

A: aumento. D: descenso.

INTRODUCCION

puberales. En ratas macho adultas, la naloxona aumenta la LH (BRUNI, 1977), pero en ratas hembras adultas BLANK y col. (1979) no encontraron esa asociación, mientras que GABRIEL y col. (1983) sí encontraron un incremento significativo de LH en todos los estadios del ciclo estrogénico. En ratas castradas u ovariectomizadas los efectos de la naloxona y los opiáceos varían considerablemente dependiendo de las pautas de pretratamiento esteroideo (GABRIEL, 1983).

En machos humanos se ha demostrado que los agonistas opiáceos disminuyen los niveles de LH y los antagonistas opiáceos lo incrementan (MORLEY, 1980). En el ciclo femenino, la naloxona aumenta la LH durante la fase folicular tardía (BLANKSTEIN, 1981) y la fase luteínica (QUIGLEY, 1980), pero no tiene ningún efecto en la fase temprana folicular del ciclo menstrual. Los opiáceos endógenos parecen jugar un papel en la modulación del patrón de los pulsos de LH en la hembra humana (ROPERT, 1981). Estos efectos están probablemente mediados a nivel hipotálamico (GROSSMAN, 1981).

Hormona estimulante del tiroides (TSH)

Los opiáceos endógenos no parecen afectar la liberación basal de la TSH, pero sí parecen estar relacionados con la caída de los niveles de TSH inducida por el estrés (JUDD, 1980).

En el hombre se han publicado datos contradictorios. MORLEY y col. (1980) no encontraron modificaciones en los niveles basales de TSH con la administración de naloxona, mientras que GROSSMAN y col. (1981) observaron un descenso de los niveles de TSH tras la administración de 16 mg. de naloxona; pero ambos grupos de trabajo observaron que no se producen cambios en la TSH de sujetos con hipotiroidismo primario a los que se les administra naloxona.

Hormona del crecimiento (GH)

En experimentación animal, la morfina y los péptidos opiáceos endógenos son potentes es-

tímulos para la liberación de GH (MARTIN, 1975), el cual se ha puesto de manifiesto en el hipotálamo (RIVIER, 1977). La liberación del factor liberador de la hormona del crecimiento parece ser el factor principal involucrado en la acción opiáide (GUILLEMIN, 1983).

En el humano la naloxona es incapaz de bloquear el aumento de GH espontáneo o inducido por el sueño (MARTIN, 1979). Tampoco se ha podido detectar que la naloxona modifique la respuesta de la GH a la hipoglucemia insulínica (SPILER, 1980) o que bloquee el aumento de la GH que acompaña al ejercicio físico intenso (MAYER, 1980). Los opiáceos endógenos no parecen jugar ningún papel en la liberación de GH en los pacientes acromegálicos (TOLIS, 1982).

Prolactina (PRL)

La inyección central o periférica de péptidos opiáceos endógenos o de opiáceos, produce una elevación brusca de PRL plasmática (BRUNI, 1977). In vitro, la liberación basal de PRL desde los lactotrofos no es estimulada por los opiáceos endógenos (RIVIER, 1977). En la rata, los péptidos opiáceos parecen aumentar la liberación de PRL de forma tónica, después del tratamiento con naloxona (BRUNI, 1977). En el humano, los opiáceos causan un importante aumento de la PRL (TOLIS, 1975), pero los niveles basales de PRL en respuesta al estrés no se afectan por la naloxona (MORLEY, 1980; GROSSMAN, 1981). Tampoco se afectan por la naloxona los niveles elevados de PRL que existen en los enfermos con prolactinomas (TOLIS, 1982).

Vasopresina (ADH)

La estimulación de la secreción de vasopresina por la beta-EP y otros opiáceos fue publicada por WEITZMAN (1977). Sin embargo, estudios posteriores sugieren una inhibición de la liberación de vasopresina por los opiáceos, tanto in vitro como in vivo (GROSSMAN, 1980). MARTIN y col. (1981) plantean una hipótesis sugiriendo una misma ubicación en las terminales nerviosas neurohipofisarias para la vasopresina

ADULFO SANCHEZ MARENCO

y para los opioides endógenos, lo cual permitiría la posibilidad de una inhibición en auto "feedback" de la vasopresina por los opioides liberados concomitantemente.

EFFECTOS SOBRE EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA Y HORMONAS PANCREATICAS

IPP y col. (1975) fueron los primeros en demostrar un incremento en la liberación de insulina y glucagón y una inhibición de la liberación de somatostatina en el páncreas del perro que era perfundido con morfina y beta-EP.

Los opioides causan hiperglucemia tras su administración central, probablemente por mediación de la activación simpática en el hipotálamo anterior (PFEIFFER, 1983). En la especie humana, la naloxona aumenta ligeramente la liberación de insulina (MORLEY, 1980), en contraste, BRIGHT y col. (1982), observaron una disminución de la recuperación de la hipoglucemia inducida por insulina con la naloxona. REID y col (1981) y FELDMAN y col. (1983) encontraron que tras la administración de una infusión intravenosa con dosis bajas de beta-EP se producía una potente estimulación en la liberación de insulina y glucagón en el humano, y este efecto no pudo ser revertido con naloxona, aunque las implicaciones fisiológicas de estas observaciones no están clarificadas.

KNUDTZON y col. (1986) observaron una disminución de los niveles plasmáticos de insulina y un aumento en los de glucosa tras la inyección de beta-EP a conejos. La hiperglucemia inducida por la beta-EP fue revertida por la naloxona, pero no por la N-metil-Naloxona (droga bloqueadora de los receptores opiáceos periféricos), lo que sugiere una acción en los receptores del sistema nervioso central.

EFFECTOS SOBRE EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Con el descubrimiento de las endorfinas y la demostración de su distribución en el cerebro y médula espinal, se han realizado una am-

plia variedad de estudios en animales de experimentación y en el hombre para determinar las acciones de los péptidos opiáceos sobre el sistema nervioso central.

Efectos sobre el dolor

En los experimentos iniciales diseñados para demostrar la actividad de las endorfinas, se usaron antagonistas opioides como la naloxona. Se pudo demostrar que la administración de naloxona en animales de experimentación (FREDERICKSON, 1977) y en el hombre (GREVERT, 1978) producía una sensibilidad al dolor incrementada o hiperalgesia. También se sugirió que las diferencias individuales en la sensibilidad al dolor estaban mediadas por las endorfinas (BUCHSBAUM, 1977).

También se ha comprobado que las beta-EP son las mediadoras de la analgesia inducida por el estrés, y que este efecto es antagonizado por la naloxona, tanto en el hombre como en el animal de experimentación (ADAMS, 1976; AKIL, 1976).

Los mecanismos endorfinérgicos también parecen jugar algún papel en la tolerancia al dolor. Se han encontrado niveles de beta-EP muy elevados en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con dolor crónico por enfermedad maligna (von KNORRING, 1978).

Se han encontrado niveles plasmáticos elevados de beta-EP en corredores de marathon (COLT, 1981) y la analgesia producida en las carreras de largo recorrido es bloqueada por la naloxona (HAIER, 1981). Las endorfinas también parecen incrementar el umbral para el dolor durante el parto (GINTZLER, 1980).

La analgesia inducida por acupuntura se acompaña de un aumento en los niveles de beta-EP en el líquido cefalorraquídeo (SJOLUND, 1977) y este efecto analgésico es bloqueado por la naloxona (MAYERL, 1977). La analgesia inducida por placebos también parece estar mediada por los opioides endógenos (LEVINE, 1985).

INTRODUCCION

Efectos sobre la conducta

Numerosos estudios en animales sugieren un papel de los péptidos opióides endógenos en la etiología y en la regulación de los trastornos de la afectividad (BELUZZI, 1977; BYCK, 1976; TERENIUS, 1976). En el hombre se ha sugerido que los niveles anormales de los péptidos opióides o de sus receptores probablemente jueguen algún papel en la mayoría de los síndromes psiquiátricos y en las enfermedades relacionadas con las alteraciones del apetito (JUDD, 1983; JANOWKSY, 1983; BERGER, 1983; NABER, 1983; KOOB, 1983). También se ha postulado que la adicción en humanos está ligada a una alteración en los niveles de los péptidos opióides y se piensa que la susceptibilidad al abuso crónico de narcóticos podría ser una alteración genéticamente determinada del sistema de los opióides endógenos (GOLD, 1983).

INTERACCIONES CON EL SISTEMA INMUNE

Los opióides endógenos están presentes en los granulocitos, linfocitos y monocitos humanos y hay alguna evidencia de que producen alguna sustancia con actividad beta-EP. En el hombre estimulan la quimiotaxis de los macrófagos e inhiben o incrementan la proliferación linfocitaria (GILMAN, 1982). Esto supone que los opióides endógenos pueden ser una unión bioquímica entre el cerebro, el sistema neuroendocrino y el sistema inmune y aportar una explicación al concepto de que el estrés emocional puede asociarse con una respuesta inmune comprometida.

EFFECTOS SOBRE EL SISTEMA CARDIO-RESPIRATORIO

Los péptidos opióides endógenos y sus receptores se han encontrado en altas concentraciones en el núcleo solitario y en el núcleo ambiguo del troncoencéfalo, en el hipotálamo anterior y en área posterior de la médula de los mamíferos. Todas estas áreas están relacionadas con el control de la respiración (FLOREZ, 1982).

TESIS DOCTORAL 14

En animales de experimentación, se ha demostrado que las beta-EP ocasionan apneas transitorias y depresión respiratoria tras ser administradas en líquido cefalorraquídeo (FLOREZ, 1980; MOSS, 1981). Así mismo, la naloxona administrada por vía periférica en animales puede contrarrestar los efectos depresores centrales de los opióides y disminuir la apnea asociada con hipoxia neonatal (MOSS, 1978; CHERNICK, 1980).

Numerosos autores han propuesto una posible conexión entre el síndrome de muerte súbita del lactante (sudden-infant-death syndrome-SIDS) y los efectos depresores respiratorios de los opióides endógenos (KUICH, 1981; MALCOLM, 1985). Una prueba evidente de que los opióides endógenos desempeñan un papel en la patogenia del SIDS está basada en el hallazgo de una mayor incidencia de dicho síndrome en los hijos de madres adictas a los opiáceos y tratadas con metadona (CHAVEZ, 1979; FINNEGAN, 1978).

En el análisis postmortem del tejido cerebral no se han encontrado diferencias significativas en los niveles del péptido met-enkefalina entre las víctimas del SIDS y los controles (KUICH, 1983; BERGSTROM, 1984). Por el contrario, sí se han encontrado niveles anormales de beta-EP, disminuidos en la hipófisis y elevados en el tronco cerebral, en los niños muertos por SIDS, aunque el número de casos estudiado fue pequeño y tampoco se estudiaron niveles de beta-EP en controles apareados por edad (PASI, 1983). La mejoría sustancial en el estado respiratorio de bastantes de estos niños durante la administración de los antagonistas opióides naloxona o naltrexona, indica la posible implicación de la beta-EP en la patogenia de la apnea infantil (MYER, 1985; ORLOWSKI, 1986).

Numerosos autores han publicado niveles de beta-EP superiores a los normales en el líquido cefalorraquídeo de niños con apnea (KUICH, 1981; ORLOWSKI, 1982a; MYER, 1985; SANKARAN, 1986; ORLOWSKI, 1986; BAYES, 1986a; BAYES, 1986b; MYER, 1987). En los grupos en que también se midió la inmunoreactividad de be-

ADULFO SANCHEZ MARENCO

ta-EP en plasma, no se correlacionaron los niveles encontrados con los del líquido cefalorraquídeo, y fueron más bajos en el grupo con apneas que en el control (MOJON, 1987; MYER, 1987).

También se han asociado niveles altos de opioides endógenos con dificultad respiratoria en un niño con encefalopatía necrotizante (BRANDT, 1980) y en niños con síndrome de obesidad-hipoventilación (ORLOWSKI, 1982b).

La apnea del prematuro, también se ha relacionado con niveles plasmáticos elevados de beta-EP (SANKARAN, 1984); pero sin embargo, el tratamiento con naltrexona no mejoró esta apnea en el prematuro (MCDONAL, 1986).

Aunque por el momento no se puede afirmar que las concentraciones de endorfinas en el líquido cefalorraquídeo sean las responsables de las apneas, una explicación probable podría ser que las concentraciones de beta-EP en el líquido cefalorraquídeo se elevan como respuesta al estrés ocasionado por las apneas, mientras que dichas apneas, serían causadas por alguna otra alteración, tal como la inmadurez del tronco cerebral (ORLOWSKI, 1986).

Se ha comprobado que la administración intravenosa de beta-EP en ratas adultas anestesiadas induce una hipotensión prolongada, efecto que se revierte al administrar naloxona (LEMAIRE, 1978). Numerosos estudios en animales han demostrado que la naloxona es capaz de revertir la hipotensión del shock endotóxico experimental (HOLADAY, 1978), y el shock hemorrágico (FADEN, 1979). También es efectiva en el shock cardiogénico experimental en los cerdos (DIRKSEN, 1980) y en el shock espinal (FADEN, 1981).

DIRKEN y col. en 1981, formulan una teoría para explicar el mecanismo fisiopatológico implicado, según el cual las endorfinas liberadas junto con la ACTH en el shock, producirían una inhibición de la prostaglandina E1. La administración de naloxona impediría la actuación de las beta-EP, permitiendo actuar a la prostaglandina E1 que contribuye a mantener el gas-

to cardíaco y disminuye las resistencias periféricas.

El efecto presor de la naloxona también ha sido reproducido en el humano adulto con shock séptico (PETERS, 1981; WRIGHT, 1980; DIRKSEN, 1980) y en el shock cardiogénico (DIRKSEN, 1980), así como en el neonato (FURMAN, 1984).

BETAENDORFINAS Y ACTH DURANTE EL EMBARAZO, LA DILATACION Y EL PARTO

La beta-EP ha sido medida por varios investigadores en el plasma periférico de mujeres durante el parto y el alumbramiento y, en menor medida, durante la gestación.

Los niveles absolutos de beta-EP encontrados varían bastante entre los distintos investigadores, dependiendo fundamentalmente de si se empleó o no un paso preliminar de extracción (los valores en extractos de plasma tienden a ser menores) y del grado de reacción cruzada del anticuerpo anti-beta-EP con la beta-LPH.

GOLAND y col. (1981) en un estudio sobre cincuenta mujeres controladas en diferentes etapas de la gestación, no encontraron diferencias significativas en los niveles de beta-EP medidos en el primero, segundo y tercer trimestre de gestación. Tampoco encuentran diferencias con respecto a las mujeres no gestantes. En la fase inicial del trabajo de parto, la beta-EP tampoco estuvo elevada, pero cuando se progresaba a una dilatación cervical superior a los cuatro centímetros, la beta-EP se incrementaba y alcanzaba un pico máximo en el periodo expulsivo.

En un estudio previo, también se había demostrado que antes del parto y en el primer estadio del mismo (menos de 5 cm. de dilatación), las concentraciones de beta-EP fueron bajas, y

INTRODUCCION

que aumentaban a partir de 5 cm. de dilatación (FLETCHER, 1980).

Resultados similares a los anteriores obtuvieron GENAZZANI y col. (1981) en ochenta mujeres embarazadas. Encontraron que los valores de beta-EP a lo largo del embarazo no diferían de los controles en mujeres no embarazadas, con un descenso significativo desde la semana 9 a la 12 y un ascenso progresivo, aunque muy leve hasta la semana 36-37 y un aumento máximo en el parto. Estos mismos resultados fueron obtenidos en un estudio posterior (GENAZZANI, 1984).

Así mismo, STEIMBROOK y col. (1982) encuentran que la inmunoreactividad de la beta-EP plasmática de gestantes a término, antes de trabajo de parto, no era diferente de la de los controles en no embarazadas.

NEWMAN y col. (1983), encontraron que la inmunoreactividad de la beta-EP aumentaba progresiva y significativamente a través de la gestación con una elevación máxima al término en 116 mujeres. Resultados similares obtuvieron EVANS y col. (1985), que en 85 mujeres embarazadas normales encontraron un aumento de la inmunoreactividad de la beta-EP desde el primer trimestre hasta el principio del tercero, con un pico máximo en las semanas 31 y 32.

La mayoría de los autores, sin embargo, han observado una elevación máxima de los niveles de beta-EP en el plasma materno durante el parto, con valores aumentados en los últimos estadíos respecto a los primeros (FACCHINETTI, 1983; FUROHASHI, 1986; ZIVNY, 1986).

La cesárea se ha asociado con grados más bajos de elevación de beta-EP en el plasma materno que los del parto vaginal espontáneo (KIMBALL, 1981; KOFINAS, 1985; RAISANEN, 1986).

Cuando se han estudiado a la vez el plasma materno y el cordón umbilical del neonato no se ha encontrado correlación entre ambos (FLETCHER, 1980; GENAZZANI, 1981; FACCHINETTI, 1983; FURUHASHI, 1986; KOFINAS,

1985; DETRICK, 1985; BACIGALUPO, 1987). Todos los autores encuentran niveles más elevados de beta-EP en el feto que en el plasma materno en el momento del parto, excepto ZIVNY (1986), aunque éste también encuentra la ausencia de correlación. Estos hallazgos sugieren un control separado para la beta-EP materna y fetal.

También para la ACTH se ha observado una tendencia a aumentar en pequeña cuantía a lo largo del embarazo (REES, 1975; GENAZZANI, 19891; NEWMAN, 1983), con aumentos máximos en el momento del parto y el alumbramiento (WINTERS, 1974; BACIGALUPO, 1987). Solo GENAZZANI (1984) encontró que los niveles de ACTH estaban elevados de forma constante el primero y segundo trimestre y disminuían en el tercero. También los recién nacidos tienen niveles de ACTH más elevados que sus madre (BACIGALUPO, 1987).

En resumen, todos los estudios parecen sugerir que los mayores niveles de beta-EP y ACTH que están asociados con el embarazo de la madre, tienen lugar durante el parto y el alumbramiento y representan fundamentalmente una reacción frente al estrés.

BETA ENDORFINA Y ACTH EN LA PLACENTA Y EN EL LIQUIDO AMNIOTICO

REES (1975) publicó la presencia de ACTH en extractos de placenta y NAKAI (1979) y ODAGIRI (1979) demostraron la presencia de inmunoreactividad de beta-EP en extractos de placenta in vitro.

LIOTTA (1977) encontró que las células productoras de ACTH eran los trofoblastos. En un estudio posterior también se comprobó que la producción de ACTH y beta-EP estaba localizada preferentemente en el tejido trofoblástico (DEMURA, 1982), al tiempo que se observó que

ADULFO SANCHEZ MARENCO

las concentraciones de beta-EP y ACTH en la placenta permanecían sin cambios durante todo el embarazo.

En el líquido amniótico también se ha demostrado la presencia de ACTH (TUIMULA, 1976). Se apreció que al principio del tercer trimestre, las concentraciones de ACTH eran más elevadas que al principio o al final del embarazo, y se sugería un origen fetal para la ACTH del líquido amniótico, al encontrar que la primera orina de los recién nacidos tenía unas concentraciones de ACTH que se aproximaban estrechamente a las del líquido amniótico.

También se ha demostrado inmunoreactividad de beta-EP en el líquido amniótico. Un estudio inicial fue llevado a cabo por GAUTRY y col. (1977) que encontraron elevadas concentraciones de beta-EP (ELI) en el líquido amniótico de mujeres al término de la gestación y un aumento marcado en los casos de distrés fetal. DIVERS y col. (1982) determinaron beta-EP (ELI) en el líquido amniótico de 72 embarazadas normales y 44 gestaciones complicadas, comprobando que en el tercer trimestre, las concentraciones de beta-EP sufren un descenso estadísticamente significativo en los embarazos normales, mientras que en los segundos (fetos con retraso del crecimiento intrauterino o prematuridad) hay una elevación significativa.

PETRUCHA y col. (1983) encontraron niveles de beta-EP en líquido amniótico significativamente más elevados durante el segundo trimestre que durante el tercero, en embarazos no complicados.

En un estudio en el que se determinaban las concentraciones de beta-EP y ACTH de forma simultánea en el líquido amniótico a través de la gestación, fue al comienzo del embarazo cuando se encontraron los niveles más altos de los dos péptidos. Posteriormente cada péptido demostró tener cambios peculiares: una progresiva disminución de la beta-EP hasta el término y valores de ACTH que cayeron desde el primero al segundo trimestre y aumentaron en el tercero (GENAZZANI, 1984).

FURUHASHI y col. (1986) midieron las concentraciones de beta-EP en el líquido amniótico, en el plasma materno y en el neonato simultáneamente en el momento del parto, encontrando que en 6 muestras de líquido amniótico de un total de 11, los niveles de beta-EP fueron indetectables, y en 5 los valores fueron muy bajos, y en todos los casos inferiores a los de la madre al término y en el momento del parto y menores también que las del recién nacido.

VOLPE y col. (1986) encontraron que los niveles plasmáticos de beta-EP en adictas a la heroína eran similares a los encontrados en embarazadas normales en todos los estadios de la gestación. Pero, sin embargo, los niveles de beta-EP en el líquido amniótico, fueron relativamente constantes a lo largo del embarazo, y significativamente más bajos en las gestantes heroínómanas que en los controles en el primero y segundo trimestre.

KOFINAS y col. (1987) encontraron que las concentraciones de beta-EP en el líquido amniótico de gestantes a término, pero sin trabajo de parto, fueron significativamente más elevadas que las obtenidas durante los primeros estadios del parto. También comprobaron, al igual que PETRUCHA (1983), que el nivel medio de beta-EP encontrado en las muestras del líquido amniótico durante la primera mitad de la gestación era significativamente más alto que el de los encontrados al término.

El origen de la beta-EP y ACTH del líquido amniótico no está claro aunque hay al menos cuatro fuentes potenciales, la circulación materna, la fetal, la placenta y la decidua. No es probable un origen materno ya que no se ha encontrado correlación entre los cambios en el líquido amniótico y las concentraciones en plasma materno (GENAZZANI, 1984) y se ha comprobado que la ACTH no parece atravesar la placenta en concentraciones apreciables (MIYAKAWA, 1974). El origen placentario no puede excluirse puesto que se ha demostrado la presencia de los dos péptidos en extractos de tejido placentario (DAGIRI, 1979). También se ha comprobado que las membranas amnióticas producen ACTH (GENAZZANI, 1974). Todas

INTRODUCCION

estas observaciones sugieren un origen local (placentario o del amnios) para los péptidos relacionados con la POMC encontrados en el líquido amniótico, aunque el origen fetal también debe ser tomado en consideración.

No hay datos sustanciales que demuestren el papel fisiológico de la beta-EP y ACTH en el líquido amniótico. Es probable que el descenso de las concentraciones de beta-EP y ACTH conforme avanza la gestación y su caída asociada con el trabajo de parto, concuerde con el concepto de que los mecanismos opioides pueden estar relacionados con el despliegue de la actividad uterina que conduce al parto (GENAZZANI, 1984; KOFINAS, 1987). Las altas concentraciones de beta-EP durante la primera mitad de la gestación podrían ser las responsables de la relajación uterina, mientras que los bajos niveles al término, antes y durante el trabajo de parto favorecerían la contractilidad uterina (KOFINAS, 1987). Por otra parte, las altas concentraciones de beta-EP en el líquido amniótico durante el primer trimestre, también sugieren un posible papel fisiológico importante de este péptido sobre el feto, correlacionándose estos altos niveles de beta-EP con el importante crecimiento de la corteza adrenal en el feto y el efecto estimulante sobre la formación de esteroides suprarrenales. El papel estimulante de la beta-EP sobre la liberación de insulina y glucagón y el evidente incremento de los niveles plasmáticos de hormona del crecimiento tras la administración de beta-EP en el feto ovino durante la gestación pueden también ser tenidos en cuenta (GENAZZANI, 1984).

BETAENDORFINA Y ACTH EN EL PLASMA FETAL

Las medidas de la inmunoreactividad de beta-EP y ACTH en el plasma fetal humano ha sido realizada por varios grupos de investigación y quedan recogidas en la tabla III y IV.

Pocos son los autores que han estudiado

TESIS DOCTORAL 18

la evolución de la beta-EP y la ACTH en el periodo neonatal. Los primeros en hacerlo fueron MOSS y col. (1982) que estudiaron a 27 neonatos y encontraron que los niveles plasmáticos de beta-EP mostraban un descenso desde 76.1 ± 47.7 pg/ml. a los 30 minutos de vida, hasta 66.6 ± 29.3 pg/ml. a las 6 horas de vida, 51.8 ± 18.1 pg/ml. a las 12 horas de vida y 27.7 ± 8.9 pg/ml. cuando cumplían 24 horas de vida postnatal. También observaron que los valores de beta-EP a las 24 horas de vida eran significativamente más bajos que los encontrados en cordón umbilical y que los del plasma fetal a las 12 horas de vida, y en todos los casos fueron más elevados que los de los adultos normales (24.5 ± 12.3). Este mismo grupo de trabajo encontró que los valores de beta-EP (ELI) en los primeros cuatro días de vida de los recién nacidos sanos, no eran diferentes de los encontrados en el cordón umbilical en el momento del parto; pero sí fueron significativamente más altos que los de los adultos. Sin embargo, a partir del quinto día de vida y hasta el día veinticuatro, los valores de beta-EP fueron significativamente más bajos que los de los primeros días de vida y similares a los de los adultos normales.

MOJON y col. (1987) encontraron que los recién nacidos sanos a los 1.6 días de vida muestran un descenso, que es estadísticamente significativo, en los niveles de beta-EP respecto a los del cordón umbilical. ZIVNY y col. (1986) también observaron una disminución estadísticamente significativa entre los niveles de beta-EP (ELI) a las 24 horas de vida con respecto a los valores obtenidos en el cordón umbilical.

DAVIDSON y col. (1986) no observaron diferencias estadísticamente significativas en recién nacidos a término en los niveles de beta-EP valorados a lo largo de las primeras 24 horas de vida. Por el contrario, en un grupo de recién nacidos prematuros, sí observaron diferencias significativas entre los valores de beta-EP a las 4-6 horas de vida, comparados con las primeras 2 horas y últimas 24 horas.

RUTH y col. (1976) encontraron valores de

ADULFO SANCHEZ MARENCO

TABLA III.- CONCENTRACIONES DE LA INMUNOACTIVIDAD DE β -ENDORFINA EN PLASMA FETAL HUMANO.

AUTORES	AÑO	MUESTRAS	β -ENDORFINA (X \pm SEM)
WARDJAW	79	CU	91 \pm 16* pg/ml
STARK	79	CU	57 \pm 12.8
GOLAND	81	CU	121 \pm 25.8* pg/ml
GENAZZANI	81	CU	16-287§ pg/ml
KIMBALL	81	CU	174.8 \pm 6.06* pg/ml
SHAABAN	82	CU	54.6 \pm 14.4* fmol/ml
FACHINETTI	82	CU	219.5 \pm 84.5* pg/ml
		30'	199.1 \pm 50.4* pg/ml
		12 horas	168.2 \pm 30.3* pg/ml
		24 horas	84.5 \pm 27.0* pg/ml
MOSS	82	VU	264 \pm 21* pg/ml
		AU	299 \pm 11* pg/ml
HINDMARSH	83	2 Dias	29 pg/ml
HINDMARSH	84	0.3 dias	27.2 pg/ml
DETRICK	85	CU	45.0 \pm 15.5 pg/ml
KOFINAS	85	CU	15.6 \pm 2.8 fmol/ml
RUTH	86	CU	17 pmol/l
		2 Horas	9.3 pmol/l
FURUHASHI	86	CU	79.1 \pm 5.8* pg/ml
ZIVNY	86	CU	523 \pm 30* ngr/l
		24 Horas	156 \pm 11* ngr/l
RAISANEN	86	AU	40.9 \pm 11.1 pmol/l
		VU	40.1 \pm 9.2 pmol/l
MOJON	87	CU	90.54 \pm 13.9 pmol/l
		1.6 Dias	27.65 \pm 5.33 pmol/l
BACIGALUPO	87	CU	98.00 \pm 23.3* pg/ml
DAVIDSON	87	0.5 Horas	17.9 \pm 2.4 pmol/l
		2-4 Horas	12.7 \pm 1.8 pmol/l
		18-24 Horas	12 \pm 4 pmol/l

*: Inmunoactividad β -endorfina. CU: Cordón umbilical. §: rango.
 VU: Vena umbilical. AU: Arteria umbilical.

INTRODUCCION

TABLA IV.- CONCENTRACIONES DE ACTH EN EL PLASMA FETAL.

AUTOR	AÑO	MUESTRA	ACTH pg/ml
CACCIARI	76	2 horas	162.2 ± 34.1
		6 horas	100.0 ± 23.4
		12 horas	49.0 ± 12.8
		24 horas	59.3 ± 12.1
		3 dias	59.4 ± 16.2
		4 dias	59.6 ± 17.0
		5 dias	50.6 ± 13.8
		6 dias	36.5 ± 8.6
		7 dias	35.0 ± 6.2
GOLAND	81	CU	103 ± 22.6
FURUHASHI	82	CU	130.6 ± 20.6
MOJON	87	CU	72 ± 72
		1.6 Dias	15 ± 15
BACIGALUPO	87	CU	98.0 ± 22.6

beta-EP significativamente disminuidos a las dos horas de vida respecto a los valores del cordón umbilical de recién nacidos de parto espontáneo y sin patología.

La evolución del ACTH en la primera semana de vida neonatal fue estudiada por CACCIA-RI y col. (1976). Observaron que los niveles más altos de ACTH se encontraban en las primeras dos horas, disminuían significativamente a partir de las 12 horas para ser mínimos a la semana. También MOJON y col (1987) encontraron una disminución de los valores de ACTH a los 1.6 días respecto a los del cordón umbilical.

Se han sugerido diversos puntos de origen para la beta-EP y la ACTH circulante en el feto: la hipófisis fetal, la circulación materna y la placenta. Tanto en animales de experimentación (WARDLAW, 1981) como en el feto humano (CSONTOS, 1980; GOLAND, 1981; FACCHINETTI, 1983; KOFINAS, 1985; DETRICK, 1985; DETRICK, 1985; ZIZVNY, 1986; FURUHASHI, 1986), la ausencia de correlación y los mayores niveles de beta-EP en el cordón umbilical sugieren que la madre no realiza una contribución significativa en las concentraciones del péptido fetal circulante. Además se ha comprobado que cuando existe estrés fetal, las concentraciones de beta-EP materna, al contrario que las fetales, no se modifican (WARDLAW, 1981; FACCHINETTI, 1983).

El origen placentario no puede ser excluido, puesto que se ha demostrado su capacidad para producir estos péptidos (LIOTTA, 1978). No obstante, el fenómeno sería el mismo que si procediera de la madre, una vez clampado y seccionado el cordón umbilical, y dado que la vida media de estos péptidos es limitada, no podría contribuir a mantener altos niveles de los mismos por un período prolongado de tiempo postnatal.

El origen fetal de la beta-EP y la ACTH circulante en el neonato. Se sugirió en un primer momento por los hallazgos de niveles de beta-EP significativamente mayores en arteria que en plasma venoso umbilical (WARDLAW, 1979), pero otros investigadores no han encontrado

esa relación (CSONTOS, 1979; SHAABAN, 1980; MOSS, 1982; RÄISÄNEN, 1986). Otro hecho que apoya el origen fetal se basa en la demostración de la presencia de beta-EP en la circulación neonatal después de las primeras cuatro horas de vida, indicando que el neonato tiene capacidad para producir estos péptidos. Puesto que la vida media de la beta-EP en el plasma es de 37 minutos (FOLEY, 1979), si los péptidos encontrados en el neonato tuvieran un origen materno o placentario, cabría esperar su desaparición de la circulación antes de 24 horas. Por otra parte, recientemente se ha demostrado la presencia de beta-EP en la hipófisis de fetos humanos desde la quinta, séptima semana de vida embrionaria (FACCHINETTI, 1987).

El plasma fetal contiene concentraciones elevadas de ACTH desde el principio del cuarto mes de gestación hasta el final de la misma con un descenso limitado hacia las 35-40 semanas (WINTERS, 1974) y mediante técnicas inmunohistoquímicas se ha detectado ACTH en la ultraestructura de células de la hipófisis anterior del feto.

FACTORES REGULADORES DE LA BETA ENDORFINA Y ACTH EN EL PERIODO NEONATAL

TIPO DE PARTO

Ni la presencia o ausencia de contracciones uterinas ni la forma del parto parecen afectar las concentraciones de beta-EP y ACTH en el plasma del cordón umbilical. Numerosos autores no han encontrado diferencias significativas en los niveles de beta-EP en recién nacidos por parto vaginal, cesárea o parto instrumental (forceps o vacuoextracción), (WARDLAW, 1979; SHAABAN, 1982; KOFINAS, 1985). Por el contrario, sí se encuentran elevaciones significativas en los niveles de beta-EP del plasma materno en el parto espontáneo vaginal en relación con los partos por cesárea electiva, sin

INTRODUCCION

trabajo de parto (KIMBALL, 1981; KOFINAS, 1985; RÄISÄNEN, 1986; BACIGALUPO, 1987), sugiriendo ésto que los cambios en la secreción de beta-EP materna no se reflejan en el compartimento fetal. WINTERS (1984) y BACIGALUPO (1987) tampoco han podido comprobar diferencias en los valores de ACTH fetal, según el tipo de parto.

HIPOXIA Y ACIDOSIS FETAL

En animales de experimentación, WARDLAW y col. (1981) demostraron que en el feto ovino se encontraban altos niveles de beta-EP y beta-LPH circulantes que se incrementaban marcadamente con la hipoxia fetal controlada. Posteriormente también se comprobó una respuesta incrementada para la hipoxia con la maduración gestacional, de forma que los fetos mayores tenían concentraciones más altas de beta-EP con la hipoxia, que los fetos más jóvenes (STARK, 1982). En el niño recién nacido, WARDLAW y col. (1979) encontraron una relación inversa altamente significativa entre el pH y la pO₂ de la arteria umbilical y las concentraciones plasmáticas de beta-EP. Concluyeron que la hipoxia y la acidosis fetal secundaria eran probablemente un estímulo para la liberación de beta-EP. Esta hipótesis fue apoyada por SHAABAN y col. (1982) que demostraron que el estrés intraparto asociado con la hipoxia fetal y evidenciado por desaceleraciones variables tardías, bradicardia prolongada o acidosis fetal, se asociaba con elevaciones de las concentraciones de beta-EP y beta-LPH en el plasma del cordón umbilical.

También se han demostrado concentraciones de beta-EP elevadas en el líquido amniótico en embarazos complicados con estrés fetal (GAUTRY, 1977) y en prematuros con retraso del crecimiento intrauterino (DIVERS, 1982), aunque después RUTH (1986) no encontró esa asociación entre el retraso del crecimiento intrauterino con insuficiencia placentaria y la elevación de beta-EP. Apoyando la hipótesis de que la asfixia perinatal se asocia con un incremento de la actividad del sistema opiáceo en el sistema nervioso central. LAUNGANI (1985) encontró una correlación inversa entre las puntuaciones del test de Apgar al minuto y los niveles de beta-EP en el líquido cefalorraquídeo. También en plasma, FACCHINETTI (1983) y FLETCHER (1980), encontraron niveles elevados de beta-EP en neonatos con puntuaciones de Apgar bajas, aunque no han sido confirmadas por otros (MOSS, 1986; RUTH, 1986; MOJON, 1987).

Aún en el parto considerado eutócico y en ausencia de indicadores perinatales de sufrimiento fetal agudo, se produce una elevación de las beta-EP intonsamente correlacionada con los niveles de lactacidemia en el cordón umbilical (MOJÓN, 1987), indicando un paralelismo entre la hipoxia tisular y la respuesta neuroendocrina a dicha hipoxia.

FUNCION RESPIRATORIA

La semejanza entre los efectos debidos a la administración exógena de beta-EP y la depresión de la función respiratoria asociada con la asfixia del nacimiento, han llevado a plantear la hipótesis de que los niveles elevados de beta-EP puedan jugar un papel en la respuesta ventilatoria del neonato a la asfixia o hipoxia intrauterina.

Fetos de conejo asfixiados en los últimos estadíos del embarazo tienen resultados en el test de Apgar considerablemente mejores cuando se tratan con naloxona que los controles tratados con suero salino (CHERNICK, 1982). También en los conejos asfixiados en el momento del parto, la apnea es abolida con naloxona (CHERNICK, 1980).

GOODLIN y col. (1981) comprobaron que la administración de naloxona a una madre cuyo feto estaba gravemente deprimido, consiguió obtener patrones de frecuencia cardiaca normales, aunque la acidosis fetal severa permaneció sin cambios. Esto apoya la hipótesis, según los autores, de que los niveles elevados de beta-EP fetal contribuyen a elevar la frecuencia cardiaca fetal y la pérdida de los patrones de variabilidad latido-latido.

UMANS y col. (1985) demostraron que los

ADULFO SANCHEZ MARENCO

fetos de cordero adictos a narcóticos presentaban un aumento de los movimientos respiratorios tras la administración de naloxona. También ADAMSON (1984), encontró que la administración de naloxona aumentaba la incidencia de movimientos respiratorios en el cordero fetal.

ARDUINI y col. (1987) observaron que en el feto humano entre las 37 y 39 semanas de edad gestacional, la administración de naloxona a la madre, produce en el feto un incremento del número, duración y amplitud de la frecuencia cardíaca. Estos hallazgos apoyan el papel de la beta-EP como un depresor cardíaco y respiratorio.

DAVIDSON y col. (1987) encontraron que los neonatos con asfixia moderada o hipotensión severa, tenían unos niveles plasmáticos de beta-EP más elevados que los prematuros no asfixiados o que los recién nacidos a término, durante las primeras seis horas de vida.

RUTH y col. (1986) encontraron que los recién nacidos con dificultad respiratoria aguda, los niveles de beta-EP mostraban diferencias significativas con las de los neonatos con respiración espontánea, sugiriendo que el aumento de secreción de beta-EP está asociado con dificultad respiratoria en el periodo neonatal.

CEPEDA y col. (1987) estudió la incidencia de hemorragia intraventricular en un grupo de 30 niños que pesaron menos de 1500 gr. al nacer y cuyas madres fueron adictas a opiáceos, y los compararon con otro grupo de niños de idénticas características, exceptuando los antecedentes maternos. Encontraron que los dos grupos fueron similares en cuanto a puntuaciones de Apgar, incidencia de acidosis, hipercapnia, neumotorax, requerimiento de apoyo ventilatorio, administración de fármacos depresores, álcalis y fluidos en los tres primeros días de vida; pero sin embargo, la hemorragia intraventricular se produjo con significativamente menor frecuencia en el grupo de hijos de madres adictas a opiáceos. Los autores suponen que los opiáceos podrían actuar por un mecanismo similar al del fenobarbital, aboliendo los

picos de hipertensión cerebral que se producen durante el periodo neonatal precoz. El aumento de madurez pulmonar descrito en los hijos de madres adictas a opiáceos tampoco parece probable que sea una causa importante de la mejor incidencia de hemorragia intraventricular en estos niños, ya que el número de niños que precisó asistencia ventilatoria fue similar en ambos grupos. Finalmente suponen que el hijo de madre adicta a opiáceos puede estar sometido a una tensión mayor, de forma crónica, antes del nacimiento, y puede también tener una autorregulación más madura de la circulación cerebral.

MADUREZ FETONEONATAL

Todavía existen ciertas dudas sobre la influencia de la madurez fetal en la capacidad de síntesis y secreción de beta-EP y ACTH, existiendo aportaciones contradictorias en este sentido.

WINTERS y col. (1978), determinaron concentraciones de ACTH en el cordón umbilical de recién nacidos prematuros más elevadas que en recién nacidos a término.

FLETCHER y col. (1980) encontraron una relación inversa entre el peso al nacimiento y la beta-EP (ELI) en sangre fetal, y emitieron la hipótesis de que los niveles de beta-EP fetal van descendiendo conforme el feto aumenta en tamaño y madurez.

STARK y col. (1981), en fetos de cordero sometidos a estímulos hipóxicos encuentra una menor respuesta en la elevación de beta-EP en los fetos menores de 130 días que en los mayores, estableciendo una relación entre edad gestacional y capacidad de secreción de beta-EP como respuesta al estrés.

BRUBAKER y col. (1982) han demostrado que no existe correlación entre la edad gestacional y el contenido hipofisario de ACTH y alfa-MSH. Sin embargo, constatan un incremento de la beta-EP conforme avanza la edad gestacional del feto.

INTRODUCCION

FURUHASHI y col. (1982) aportan una correlación lineal simple, estadísticamente significativa, entre el peso al nacimiento, tomado como parámetro de madurez fetal, y los niveles plasmáticos de ACTH y beta-EP.

HINDMARSH y col. (1984), no pudieron demostrar una correlación lineal simple entre la edad gestacional y los niveles de beta-EP en el cordón umbilical de un grupo de recién nacidos con sufrimiento fetal agudo, cuyo rango de edad estaba entre las 27 y 38 semanas. Sin embargo, sí pudieron establecer una relación lineal simple entre la edad gestacional (ran-

go 26-41) y la beta-EP determinada a los 3.4 ± 1.3 días de vida, en un grupo de neonatos patológicos.

RUTH y col. (1986) no encontraron diferencias en los niveles de beta-EP entre los recién nacidos pequeños para la edad gestacional y los recién nacidos a término a las 2 horas de vida. DAVIDSON y col. (1987) sí encontraron niveles de beta-EP elevados de forma significativa en los recién nacidos pretérmino, comparados con los recién nacidos a término a las 6 horas de vida.

JUSTIFICACION Y OBJETIVO

JUSTIFICACION Y OBJETIVO

Tras el descubrimiento de las encefalinas, y entre ellas un neuropéptido denominado beta-endorfina, las Investigaciones acerca de su estructura química, su ontogenia y sus significaciones teleológicas han motivado una sucesión de estudios en la experimentación básica, animal y en seres humanos, interesando a casi todas las áreas de la Ciencia.

La beta-endorfina, un neuropéptido de 31 aminoácidos, deriva, a la vez que la hormona adrenocorticotropa, beta- lipoproteína y beta-gamma-hormona melanocito estimulante, de una molécula precursora conocida como proopiomelanocortina. La hormona adrenocorticotropa y su familia de neuropéptidos tienen acciones sobre la neurotransmisión y neuromodulación en el sistema nervioso central, y distintos efectos, bien establecidos en algunos casos y más dudosos en otros, periféricos. Estas sustancias, originadas en la adenohipófisis, son almacenadas y liberadas en cantidades importantes en situaciones de "alarma". El efecto de las mismas se ha relacionado con las funciones cardiocirculatorias y respiratorias, con la analgesia, con diversos efectos psicoemocionales, con la propia regulación del eje hipotálamo-hipofisario y la respuesta hormonal de las glándulas suprarrenales, entre otros menos estudiadas o conocidas.

Como en cualquier otro campo de la neurofisiología, tendrá que transcurrir un periodo de tiempo más o menos prolongado y serán precisos más estudios experimentales básicos y observaciones en humanos, para establecer que papel desempeñan estos opicoides endógenos en estado fisiológico y fisiopatológico, sobre todo en el transito de la vida intrauterina a la extrauterina, donde parecen jugar algún papel en los mecanismos reguladores de los cen-

tros respiratorios y en la función cardiopulmonar.

La beta-endorfina y la hormona adrenocorticotropa se secretan al plasma concomitantemente cualquiera que sea el estímulo desencadenante, aunque el sentido fisiológico y fisiopatológico de esta liberación paralela se desconoce. La respuesta secretora adenohipofisaria de estos neuropéptidos guardaría algún grado de relación con la madurez fetal. No se ha podido establecer si la respuesta del sistema beta-endorfinérgico, en el estrés del parto y en la adaptación neonatal precoz, representa alguna ventaja o por el contrario refleja una situación de "riesgo vital".

Las consecuencias de una agresión cerebral, con la instauración de un "síndrome de sufrimiento cerebral agudo- subagudo" (hipoxia-isquemia, shock, meningitis, etc.) en el mantenimiento de la capacidad de respuesta del sistema beta-endorfinérgico en el periodo perinatal tampoco se conoce con exactitud.

En el campo de la Neonatología es así por varias razones. La primera, es que las cantidades de las muestras (4-5 ml de sangre y/o 1-2 ml de líquido cefalorraquídeo), limitan las posibilidades éticas y deontológicas que permite la investigación humana. La segunda, es que gasto económico (material inventariable y fungible) y los tiempos invertidos para su análisis se sitúa en la frontera de la duda entre costos-beneficios, por lo menos de inmediato. Y, la tercera, es la necesidad de contar un laboratorio dotado de un personal altamente cualificado, por supuesto lejos de la dotación habitual de un laboratorio clínico- asistencial.

Estas consideraciones previas podrían justificar que una línea de investigación con más

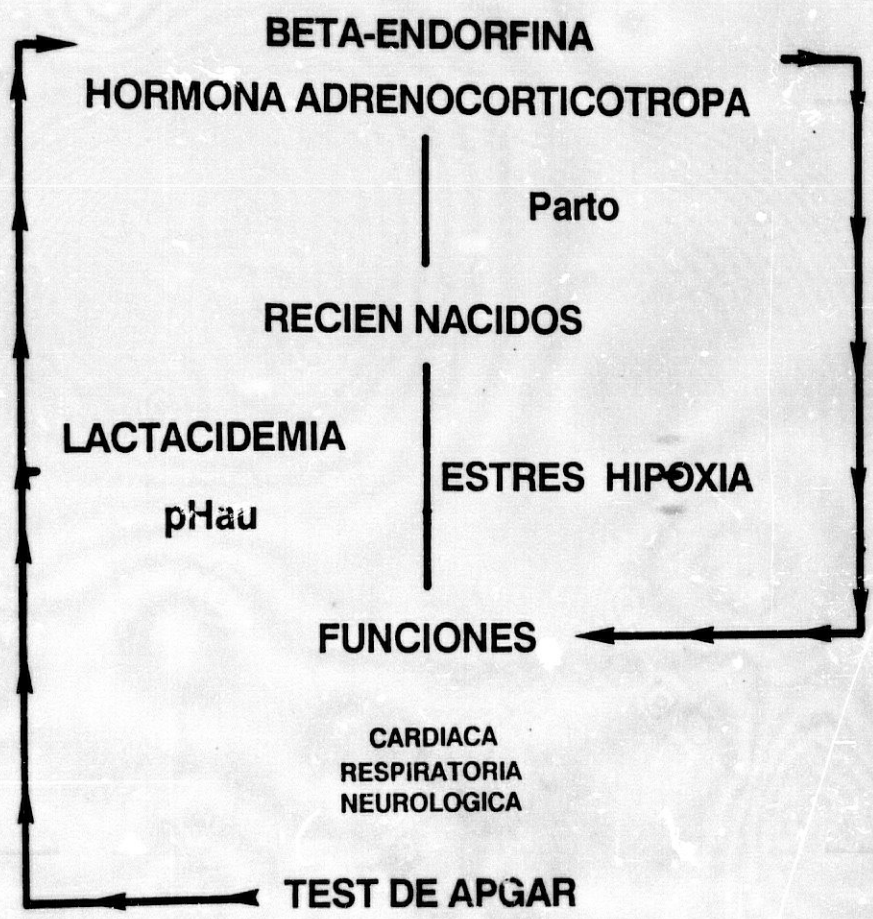
JUSTIFICACION Y OBJETIVO

de un lustro de desarrollo en nuestro Centro, y tras insumir un esfuerzo no desdeñable, haya aportado resultados solo parciales en el OBJETIVOS primordial o HIPOTESIS de trabajo:

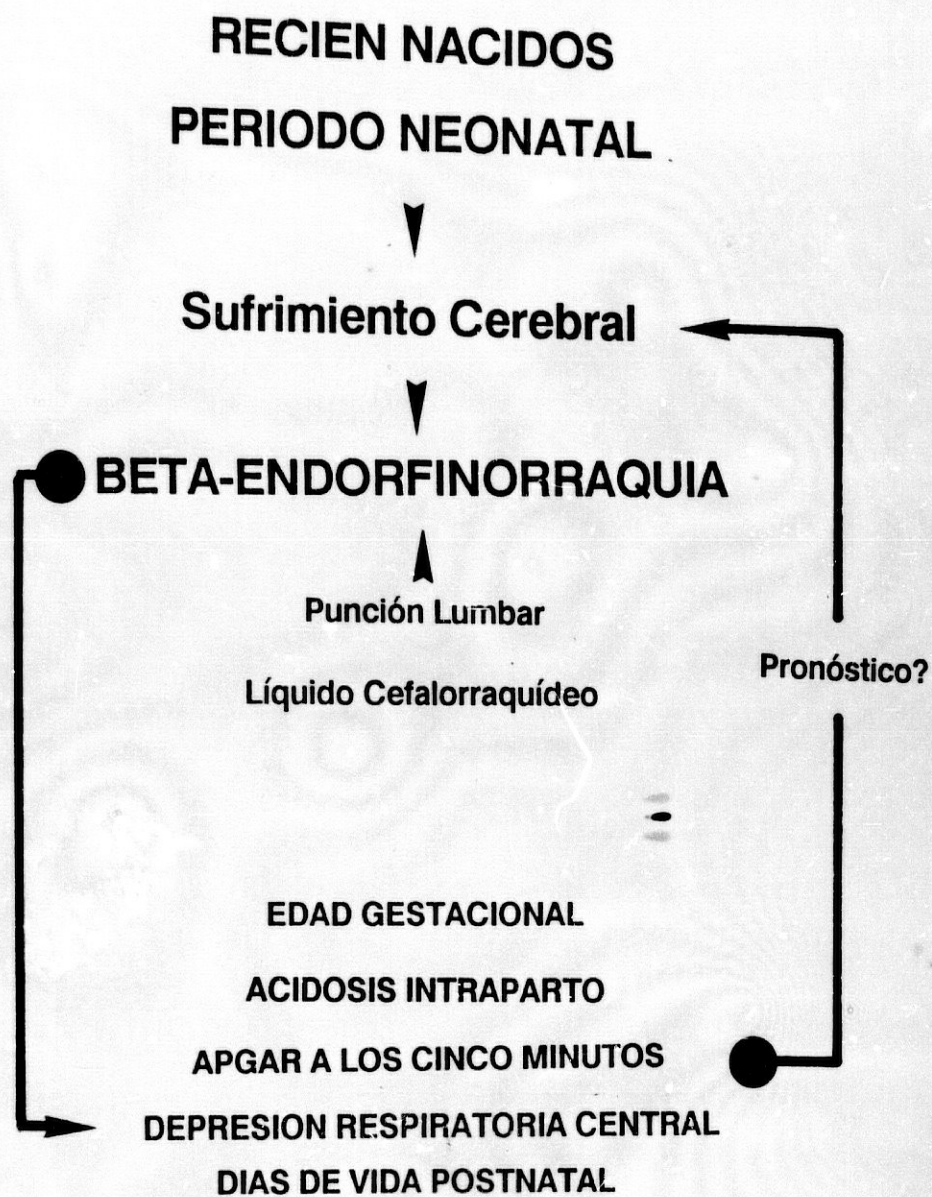
¿ Se pueden establecer relaciones entre los niveles de beta- endorfinemia / beta-endorfinorraquia y la depresión respiratoria perinatal ?.

Con este planteamiento se propuso estudiar: Primero, en que medida la "agresión hipóxica intraparto" influye en la secreción adenohipofisaria de "hormona adrenocortico-

tropa y beta- endorfina". Segundo, en que medida las tasas plasmáticas de "hormona adrenocorticotropa y beta-endorfina" se puede relacionar con la "depresión vital neonatal" secundaria a una hipoxia intraparto (Esquema 1). Y, tercero, en que medida las concentraciones de beta-endorfinorraquia, en el contexto clínico de un "sufrimiento cerebral agudo-subagudo", se relacionan con el grado de madurez fetal (edad gestacional), acidosis intraparto (pH de arteria umbilical), días de vida postnatal y la capacidad de mantener movimientos respiratorios espontáneos (Esquema 2).



ESQUEMA 1: El diagrama representa la hipótesis de trabajo en la que se quiere establecer si se puede relacionar la secreción adenohipofisaria de ACTH y Beta-Endorfina (concentraciones plasmáticas) con el grado de estrés intraparto -pH de arteria umbilical y lactacidemia- y la depresión vital neonatal.



ESQUEMA 2: El diagrama representa la hipótesis de trabajo en la que se establece si se relacionan los niveles de endorfinorraquia en el contexto clínico de un síndrome de sufrimiento cerebral neonatal, con la madurez, el grado de hipoxia intraparto, depresión vital neonatal, y la capacidad de mantener movimientos respiratorios.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL Y METODOS

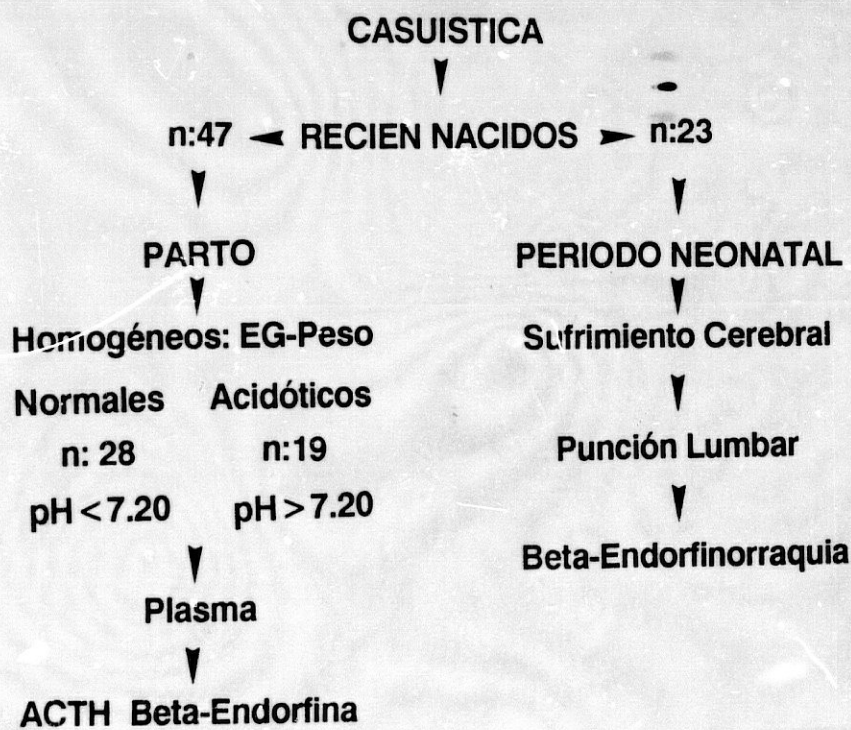
CASUISTICA

El estudio fue aprobado por la Comisión de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

Se estudian dos grupos de recién nacidos como sigue:

a) La inmunorreactividad de beta-endorfina y

la hormona adrenocoticotropa (ACTH) se midieron en el plasma obtenido del cordón umbilical de 47 recién nacidos a término, afectados de diversos grados de "estrés" agudo intraparto, de acuerdo con el pH (Blood Gas System AVL-900) y las concentraciones de lactato de arteria umbilical (Lactate Analyzer 640 de Roche^R), y del grado de depresión vital al nacimiento mediante puntaje del test de Apgar (APGAR, 1953). Este grupo de recién nacidos fue subdividido en dos subgrupos en función del pH de arteria umbilical (Esquema 3):



ESQUEMA 3: El diagrama sintetiza la casuística estudiada.

MATERIAL Y METODOS

El primer subgrupo (G-I) quedo configurado por 28 neonatos cuyo pH de arteria umbilical fue superior a 7.20, con un valor medio de 7.26 ± 0.008 y unos valores medios de las concentraciones de lactato en arteria umbilical de 3.15 ± 0.14 mmol/L, y ausencia de depresión vital al nacimiento con un puntaje del test de Apgar superior a 7 puntos al minuto y a los cinco minutos (rangos: 7-10 y 9-10, respectivamente).

El segundo subgrupo (G-II) se formó con 19 recién nacidos afectados de una acidosis intraparto intensa, con un pH de arteria umbilical inferior a 7.20, y cuyo valor medio resultó de 7.10 ± 0.01 , y una concentración media de lactato en arteria umbilical de 6.41 ± 0.44 mmol/L; este grupo mostró una depresión vital importante al nacimiento con un puntaje del test de Apgar en un rango de 1-9 al minuto y de 3-10 a los cinco minutos de vida.

Ambos subgrupos fueron homogéneos para la edad gestacional y peso al nacimiento (madurez fetal), siendo de 39.6 ± 0.2 semanas versus 39.6 ± 0.6 semanas (p:NS) y 3.368 ± 67 g versus 3.430 ± 68 g (p:NS), respectivamente.

b) El segundo grupo está constituido por 23 recién nacidos con manifestaciones clínicas de sufrimiento cerebral agudo-subagudo (JIMENEZ, 1983), cuyos niveles de beta-endorfina se determinaron en el líquido cefalorraquídeo (LCR), obtenido por punción lumbar en el periodo neonatal a los 7.9 ± 1.6 días de vida. La punción lumbar estuvo indicada por criterios estrictamente médicos, al margen del grupo de investigación, e indicada en el escrutinio biológico-diagnóstico de una sepsis, meningitis o hemorragia intracraneal secundaria a hipoxia-isquemia intraparto.

Los antecedentes de madurez fetal y grado de "estrés" intraparto fueron los siguientes: Edad gestacional de 39.00 ± 0.69 semanas, y peso al nacimiento de 3.028 ± 188 g; pH de arteria umbilical de 7.21 ± 0.03 y 10/23 tuvieron un puntaje del test de Apgar inferior a 7 a los cinco minutos.

El estado clínico (promedio de los valores paramétricos de las últimas constantes vitales controladas previas a la punción lumbar) antes de la obtención de la muestra de LCR para la determinación de beta-endorfina era el siguiente: 1.- ESTADO RESPIRATORIO: 17/23 mantenían una respiración espontánea (independiente de que estuvieran recibiendo alguna medida de soporte respiratorio, v.g. oxigenoterapia con campana de Hood, y 6/23 recibían soporte ventilatorio (IMV) (tipo de respirador "Infant Ventilator Mod. BP-200") por depresión respiratoria central (en ausencia de patología pulmonar). 2.- ESTADO METABOLICO: Gasometría arterial (analizada mediante un "AVL- Automatic Blood Gas System 940"): pH 7.27 ± 0.02 , $paO_2 68.4 \pm 6.63$ mm Hg, $paCO_2 39.0 \pm 2.0$ mm Hg; Glucemia 88.5 ± 7.9 mg/dl. 3.- ESTADO CARDIOCIRCULATORIO: Presión arterial (medición incruenta mediante Ohio 2200 neonatal NIBP-Monitor), presión sistólica 67.5 ± 4.2 mm Hg y presión diastólica 41.5 ± 3.0 mm Hg; Frecuencia cardiaca (Monitorizada mediante monitor "Corometrics"- 515) 134 ± 6 latidos por minuto. 4.- ESTADO DE TERMOREGULACION (los pacientes estaban en condiciones de ambiente térmico neutro según madurez fetal, peso y el control se refiere a la medición de la temperatura central -rectal o superficie hepática) 36.4 ± 0.1 grados centígrados.

ANALISIS BIOQUIMICOS

PRINCIPIO DE LA TECNICA: Las determinaciones de beta-EP y ACTH se han realizado por radioinmunoanálisis (RIA), método basado en la unión de un antígeno radiomarcado -Ag(*)- y de una concentración conocida con una cantidad de anticuerpo -Ac- preestablecida (Ac estándar) de alta especificidad y avidez para el Ag(*) en cuestión.

La mezcla de Ag(*) y Ac estándar da lugar a complejos Ag(*)- Ac que serán disociados por reacción competitiva con un Ag no marcado. La cuantificación de esta reacción se utiliza para la

medición de la sustancia no marcada (problema) que es añadida. Al establecerse esa competición por el locus antigénico del Ac estándar, cuanto mayor sea la cantidad de Ag(*) que permanezca unido al Ac estándar, tanto menor será, obviamente, la cantidad de Ag no marcado que se ha unido a este último.

Esta técnica, desarrollada por BERSON y YALLOW en 1959 y ampliamente utilizada para la determinación de hormonas y péptidos, no está exenta de limitaciones (FELBER, 1978), siendo una de las principales la solubilidad de algunos complejos Ag(*)- Ac estándar que dificultan la precipitación de los mismos y la reacción competitiva del Ag libre (problema) por el locus al que se haya unido el Ag(*) en el Ac estándar. Para obviar esta dificultad se han intentado diferentes modificaciones, como son las técnicas del doble Ac o la de ELISA (RIA en fase sólida o investigación inmunosorbente ligada a enzimas) (NICHOLSON, 1980).

El RIA empleado para la determinación de beta-EP en plasma consta de dos procedimientos. El primero comprende la extracción de la beta-EP del plasma usando partículas de adsorción específica. Esta beta-EP adsorbida es luego eluida de forma fácil y rápida para la medida inmediata en un RIA sensible. El método de RIA está basado en un anticuerpo con alta sensibilidad para la beta-EP. Se utiliza un Ac de conejo frente a una beta-endorfina humana sintética, seguido de una adición tardía de la beta-endorfina marcada que mejora la sensibilidad del método. La muestra, el Ac de conejo y la beta-endorfina marcada se incuban durante 16-24 horas a 4°C, y se provoca la precipitación al añadir un segundo Ac precipitante (Ac de carnero frente al Ac de conejo). El RIA utilizado para la cuantificación de ACTH permite una determinación sensible y específica de este neuropéptido mediante el análisis directo de muestras plasmáticas. La ACTH de la muestra compete de forma equivalente con la ACTH marcada por los lugares de unión del Ac. El inmuno-complejo radioactivo formado durante una incubación de 18 horas se separa de la ACTH libre por adsorción de esta última sobre carbón.

ADULFO SANCHEZ MARENCO

RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras se han obtenido en los siguientes grupos de recién nacidos y condiciones: 1) De sangre de cordón umbilical (4-5 ml): En recién nacidos a término, sin antecedentes médicos maternos, obstétricos, ni gestacionales, y por un parto espontáneo, cefálico con o sin signos clínicos (obstétricos y pediátricos) de sufrimiento fetal agudo y valorado por el grado de acidosis (pH y concentración de lactato en arteria umbilical). 2) Líquido cefalorraquídeo (0.5-1.5 ml), obtenido por punción lumbar, en neonatos afectos de un síndrome de "sufrimiento cerebral" en el contexto del escrutinio biológico-diagnóstico para el análisis bioquímico-citológico-microbiológico rutinario.

CONDICIONES DE OBTENCION (Plasma).- La obtención de las muestras del cordón umbilical se efectuó sin tener en cuenta horario alguno, una vez clampado y seccionado el mismo. La obtención se hizo lo más lentamente posible para evitar el riesgo de hemólisis, capaz de introducir un factor de error en la cuantificación de beta-EP y ACTH. Posteriormente la sangre fue vertida en un tubo de 5 ml de un solo uso con anticoagulante (EDTA dipotásico), en el que previamente se había añadido 0.1 ml de Traxylol que inhibe las peptidasas capaces de degradar la beta-EP y la ACTH, dado que la vida media de estos péptidos podría modificarse bajo la acción enzimática peptidásica (FACCHINETTI, 1982; NAKAO, 1980; MCLOUGHLIN, 1980). La adición de Traxylol como inhibidor enzimático no modifica la cuantificación de beta-EP y ACTH (MORALES, 1984).

TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS.- Tras la obtención los tubos que contienen la sangre son introducidos en un recipiente con hielo fundente (Temperatura de 0 a 4°C) preparado al efecto para su traslado, si bien, en general, la separación del plasma se ha hecho de forma inmediata a la extracción.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.- La sangre es centrifugada (760 x g) durante 15 minutos y el plasma obtenido se reparte en tres partes alícuotas, hasta el momento de su análisis.

TESIS DOCTORAL

MATERIAL Y METODOS

sis. Dos de las alícuotas se emplearon para cuantificar beta-EP y ACTH, mientras que la tercera se conservó en el arcón congelador para posteriores análisis, si se hubieran precisado.

MATERIAL DE LABORATORIO PARA LA DETERMINACION DE BETA-ENDORFINA EN PLASMA Y LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO Y HORMONA ADRENOCORTICOTROPA EN PLASMA

BETA-ENDORFINA PLASMATICA.- A) MATERIAL INCLUIDO EN EL KIT - plasma beta endorphin by RIA- de Immuno Nuclear Corporation (Stillwater, Minnesota): Sefarosa anti-beta-endorfina. Columnas de cromatografía con tapones. Acido clorhídrico 0,025 N. NaOH 0,1 N. Estándar 0. Estándar de beta-endorfina (de 5 a 80 pmol/L = 17 a 277 pg/ml). Suero de conejo anti-beta-endorfina (primer Ac). Beta-endorfina-¹²⁵I. Precipitante del complejo Ag(*)-Ac (segundo Ac). Plasma control de beta-endorfina. B) MATERIAL NECESARIO (no constitutivo del KIT): Para la recogida de muestras: Tubos de plástico de 5 ml. EDTA dipotásico: eutubo-Ke-5EDTA. Tubos de polipropileno de 10 ml (PP-10). Traxylol Bayer: 200.000 L 10ml. Congelador. Centrifugadora Beckman TJ-10.

Para el procedimiento de extracción y concentración de beta-endorfina: Tubos de vidrio Corning (Pyrex) 16 x 100 mm. Soporte para mantener las columnas de cromatografía en posición vertical a fin de laborar con ellas. Pera de goma. Rotor Selecta 24 rpm, con una inclinación de 45 grados. Suero salino (0.85%).

Para el procedimiento de RIA: Tubos de vidrio Corning (Pyrex) 12x75 mm. Centrifugadora refrigerada Jovank-101. Contador gamma LKB Wallac 1280 ultragamma. Agitador Gri-Gel. Mixotub. mod. 30. Pipetas automáticas Transferpettor Brand de 500 y 1.000 microlitros. Pipetas Socorex de 0.2 y 1 ml.

BETA-ENDORFINA EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO.- A) MATERIAL INCLUIDO EN EL KIT (Cerebrospinal fluid beta-endorphin by RIA

-INCTM): BSA-borato 1%; "standard" de beta-endorfina (80 pmol/L); suero de conejo anti-beta-endorfina (primer Ac); ¹²⁵I-beta-endorfina; precipitante del complejo Ag (G)-Ac. (segundo Ac). B) MATERIAL NECESARIO (no constitutivo del Kit): Además del material descrito para la determinación de beta-endorfina en plasma, son necesarios los siguientes: tubos de vidrio de boro-silicato de 12x75 mm; centrifugadora Beckman TJ-10; contador gamma LKB-Wallac 1280 Ultragamma; agitador Gri-Gel. Mixotub. Mod. 30; pipetas socorex de 0.2 y 1 ml; agua destilada.

ANALISIS DE HORMONA ADRENOCORTICOTROPA PLASMATICA (ACTH).- A) MATERIAL INCLUIDO EN EL KIT -dosage radioimmunologique de l'hormone corticotrope- de Sorin Biomedica S.p.A. (Saluggia, Verceilli): ACTH de origen porcino marcada con ¹²⁵I. Estándar 0 (desprovisto de ACTH). Estándares 1 a 5 (25 a 900 pg/ml de ACTH). Antisuero de conejo anti-ACTH. Agente estabilizante. Carbón. Tampón. B) MATERIAL NECESARIO (no constitutivo del KIT): Es el mismo que el requerido para la beta-endorfina, exceptuando el indicado para la extracción, ya que para el análisis de la ACTH no es preciso realizar el procedimiento de extracción. Todo este material se complementa con rejillas para tubos, papel de gráficas y agua destilada.

METODO DE LABORATORIO PARA LA DETERMINACION DE BETA-ENDORFINA Y EN PLASMA Y LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO Y HORMONA ADRENOCORTICOTROPA EN PLASMA

EXTRACCION Y CONCENTRACION DE BETA-ENDORFINA PLASMATICA: 1º.- Se etiqueta una columna para cada estándar, plasma del paciente y plasma control: una columna para el tubo NSB, los estándares de 0, 5, 10, 20, 40 y 80 pmol/L, el plasma control y cada una de las muestras problema. 2º.- Se añaden 0.5 ml de suspensión de partículas de sefarosa anti-beta-endorfina a cada una de las columnas. Posteriormente, se deja que el sobrenadante de la sefarosa drene a través de las columnas. Mediante

una pera de goma se fuerza al sobrenadante remanente al paso a través de las mismas. 3º.- Se tapa fuertemente el fondo de cada columna con sus respectivos tapones, y se añade 1 ml de los estándares, plasma control y muestras de los pacientes a las columnas etiquetadas previamente. 4º.- Tapar la parte superior de las columnas con sus respectivos tapones. 5º.- Rotar durante 4 horas +/- 15 minutos a 2-8°C. 6º.- A continuación se colocan las columnas en posición vertical, dispuestas ordenadamente para posteriores manipulaciones, y se retiran ambos tapones. 7º.- Se deja que el plasma drene a través de las columnas, usando la pera de goma para forzar el paso del resto de plasma. 8º.- Seguidamente se procede al lavado de cada columna con tres alícuotas de 1 ml de suero salino al 0.85%, teniendo cuidado de enjuagar las paredes de las mismas, y forzando todo el salino restante mediante la pera de goma. 9º.- Diluir la beta-endorfina de las columnas con 250 ml de ácido clorhídrico 0.0125 N durante un minuto y, posteriormente, forzar la dilución a través de las columnas usando la pera de goma y recogiendo la en tubos de 16x100 mm. Este proceso se repite nuevamente. 10º.- La dilución de beta-endorfina da un volumen total aproximado de 0.5 ml que se agitará suave y convenientemente. 11º.- Inmediatamente se procede al análisis radioinmunológico de la beta-endorfina.

PREPARACION DE REACTIVOS PARA LA DETERMINACION DE BETA-ENDORFINA EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO: 1.- BSA-borato 1%: Reconstituir el vial con 35 ml de agua destilada. Dejar 20 minutos, hasta su completa reconstitución. Agitar suavemente antes de usar en el RIA. 2.- beta-endorfina "standard": Reconstituir el vial con 2 ml de agua destilada para obtener 80 pmol/L. Mezclar cuidadosamente sin hacer espuma. Dejar 20 minutos hasta su completa reconstitución. Con objeto de obtener la curva "standard" completa, se haran diluciones seriadas añadiendo 500 microlitros de "standard" a 500 microlitros de BSA-borato 1%, para obtener "standars" de 40, 20, 10 y pmol/L: 500 microlitros de "standard" de 80 pmol/L mas 500 microlitros de BSA-borato 1% resulta una mezcla de "standard" de 40 pmol/L; 500 microlitros de "standard" de 40 picomol/L más 500 microlitros

de BSA-borato 1% resulta una mezcla de "standard" de 20 picomol/L; 500 microlitros de "standard" de 20 picomol/L más 500 microlitros de BSA-borato 1% resulta una mezcla de "standard" de 5 picomol/L. 3.- Suero de conejo anti-beta-endorfina. Reconstituir el vial con 7 ml de agua destilada. dejar 20 minutos para su completa reconstitución. Mezclar suavemente antes de usar en el RIA. 4.- 125I-beta-endorfina: Reconstituir el vial con 7 ml de agua destilada. Dejar 20 minutos para su completa reconstitución. Mezclar suavemente antes de su uso en el RIA. 5.- El precipitante del complejo Ag(G)-Ac.: Reconstituir el vial con 35 ml de agua destilada. Mezclar suavemente hasta conseguir que la suspensión sea homogénea. Dejar 30 minutos a temperatura ambiente, agitando eriodicamente.

PROCEDIMIENTO DEL RADIOINMUNOANALISIS PARA LA CUANTIFICACION PLASMATICA DE BETA-ENDORFINA (es preciso analizar todas las muestras de un paciente con el mismo kit y en el mismo procesamiento):

1º.- Se reconstituyen y se agitan suavemente los reactivos liofilizados a temperatura ambiente (20 a 25°C). 2º.- Se marcan los tubos de 12x75 mm convenientemente y por duplicado de acuerdo con el protocolo de la Tabla V. Todos los volúmenes están expresados en microlitros. Estos tubos se colocan en una gradilla sumergida en un recipiente o bandeja con hielo troceado. 3º.- Añadir los reactivos a los tubos de la forma siguiente: a) Tubos con actividad total: 100 microlitros de beta-endorfina-¹²⁵I (ya no se consideran hasta el paso 8º). b) Unión no específica (NBS): 200 microlitros de estandar 0; 50 microlitros de NaOH 0,1 N. c) Estandar 0: 200 microlitros de estandar 0; 50 microlitros de NaOH 0,1 N.; 100 microlitros de anti-beta-endorfina de conejo. d) Beta-endorfina estándar (de 5 a 80 pmol/L): 200 microlitros de beta-endorfina estandar; 50 microlitros de NaOH 0,1 N.; 100 microlitros de suero de conejo anti-beta-endorfina. e) Control de calidad y plasma desconocido: 200 microlitros de control de calidad o plasma desconocido; 50 microlitros de NaOH 0,1 N.; 100 microlitros de suero de conejo anti-beta-endorfina. 4º.- A continuación se añaden 100 microlitros de beta-endorfina-¹²⁵I a cada tu-

MATERIAL Y METODOS

TABLA V .- PROCEDIMIENTO DE RADIOINMUNOENSAYO PARA LA BETA-
ENDORFINA PLASMATICA

	Actividad total		Estándares (pmol/L)					Control y muestras	
	NSB		0	5	10	20	40	80	1
Tubo número	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
Estandar 0	200	200							
Estandares control de calidad y muestras			200	200	200	200	200	200	200
NaOH 0.1 N	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Primer Ac							100		
Primer Ac							100		
B-Endorfina ¹²⁵ I							100		
B-Endorfina ¹²⁵ I							100		
Agitar suavemente. Incubar durante 16-24 horas.									
Segundo Ac							500		
Segundo Ac							500		

Todos los volúmenes se dan en microlitros.

bo, se agitan suavemente y se incuban durante 16-24 horas a 2-8 °C. 5º.- Pasado este tiempo de incubación se añaden 500 microlitros de reactivo precipitante de los complejos Ag-Ac (GAR- PPT) a cada tubo, agitando suavemente sin hacer espuma y con una nueva incubación durante 15-25 minutos entre 2 y 8° C. 6º.- Centrifugar los tubos a un mínimo de 760 x g durante 20 minutos a 20-25° C. 7º.- El sobrenadante se separa mediante decantación o aspiración suave. 8º.- Finalmente, se cuenta el precipitado de cada tubo y los tubos con actividad total en un contador gamma (CKG WALLAC 1280 ULTRAGAMMA), durante 60 segundos o más (Figura 1).

PROCEDIMIENTO DEL RADIOINMUNOANÁLISIS PARA LA DETERMINACION DE BETA-ENDORFINA EN EL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

(las muestras de un paciente deben ser analizadas con el mismo kit): 1º.- Se reconstituyen los reactivos liofilizados. Se conservan en hielo fundente (no dejar congelar). se agitan suavemente antes de ser usados. 2º.- Por duplicado se ordenan y numeran los tubos de vidrio de 12x75 mm. Los tubos se colocan en una gradilla sumergida en un recipiente o bandeja con hielo troceado y fundente. 3º.- Añadir los reactivos a los tubos de la siguiente forma: a) Tubos con actividad total: 100 microlitros de ¹²⁵I- Beta-endorfina (ya no se consideran hasta el paso 11. b) Unión no específica (NSB): 200 microlitros de BSA-borato 1% c) "Standard" 0: 200 microlitros de bsa-borato 1%; 100 microlitros de suero de conejo anti-beta-endorfina. d) "Standard" de beta-endorfina: 200 microlitros de "standard" de beta-endorfina; 100 microlitros de suero de conejo anti-beta-endorfina. 4º.- Agitar suavemente e incubar durante 16-24 horas a 2-8 grados centigrados. 5º.- Añadir 100 microlitros 125I-beta-endorfina a cada tubo. 6º.- Agitar suavemente e incubar durante 16-24 a 2-8 grados centigrados. 7º.- Añadir 500 microlitros de precipitante Ag (G)-Ac. a cada tubo. 8º.- Agitar suavemente sin hacer espuma e incubar durante 2 horas a 2-8 grados centigrados. 9º.- Centrifugar los tubos a un mínimo 760 g x 20 minutos a 20-25 grados centigrados. 10º.- Decantar o aspirar el sobrenadante. 11º.- En un contador gamma se cuan-

tifica el precipitado de cada tubo y los tubos con actividad total, por lo menos, 60 segundos.

PROCEDIMIENTO DEL RADIOINMUNOANÁLISIS PARA LA DETERMINACION DE HORMONA ADRENCORTICOTROPA PLASMATICA (ACTH): Los principales pasos del análisis son: 1º.- Reconstitución de los reactivos siguientes: tampón, hormona marcada, estándares (0, 1 a 5) y antisuero. Se conservan refrigerados a 2-6° C. 2º.- Al igual que en el RIA, para la determinación de beta-endorfina es preciso preparar los siguientes grupos de tubos: Grupo T, para calcular la actividad total. Grupo C, para el control del marcador y la determinación del blanco. Grupo O, para el punto O de la curva y el cálculo de la capacidad de ligazón. Grupo estandar, para los 5 puntos estandar. Grupo Sx, para las muestras de plasma problema. Grupo Cx, para determinar los blancos de las muestras de plasma. Los análisis se efectúan en triplicado para los tubos T, C, O y estándares 1 a 5, y en duplicado para las muestras de plasma. 3º Se añaden los reactivos a los tubos a temperatura ambiente (18- 25° C), siguiendo el orden que se cita a continuación: 1) Tampón. 2) Estándares y muestras. 3) Hormona marcada. 4) Antisuero. Los volúmenes de los reactivos se añaden a cada grupo de tubos quedan expresados en la Tabla VI. El volumen de incubación es de 1 ml. 4º.- Seguidamente se mezcla el contenido de cada tubo, después de lo cual se dejan incubar 48 horas a 2-6° C. 5º.- Al tercer día de haber comenzado el RIA se introducen los tubos en un baño helado, se reconstituye el carbón y hay que añadir 0.5 ml de dicha suspensión a todos los tubos, excepto los T, manteniéndola en un baño de hielo bajo agitación magnética. Este proceso no debe durar más de 5 minutos. 6º.- Agitar los tubos y esperar 5 minutos, dejando todo en el baño de hielo. 7º.- Cuando han transcurrido los minutos mencionados mencionados, se centrifugan los tubos durante 15 minutos a 1.500-2.000 g a 2-6° C y se decanta el sobrenadante de los mismos en los correspondientes tubos de recuento. 8º.- Después de realizados todos los pasos anteriormente descritos los tubos RIA se encuentran en condiciones para proceder a la medida de su radiactividad, de la misma ma-

MATERIAL Y METODOS

TABLA VI .- PROCEDIMIENTO DE RADIOINMUNOANALISIS PARA LA ACTH EN PLAMA

GRUPOS DE TUBOS	TAMPON (ml)	ESTANDAR O MUESTRA (ml)	ACTH ¹²⁵ I (ml)	ANTISUERO (ml)
T	1.3		0.1	
C	0.8	0.1 Est 0	0.1	
O	0.7	0.1 Est 0	0.1	0.1
Est 1 a 5	0.7	0.1 de Est 1 a Est 5	0.1	0.1
Sx	0.7	0.1	0.1	0.1
Cx	0.8	0.1	0.1	

T: Cálculo de actividad total; C: control marcador/determinación blanco; O: punto de la curva/cálculo capacidad de ligazón; Est 1- Est 5: puntos estándar; Sx: plasma problema; Cx: determinación blancos problema.

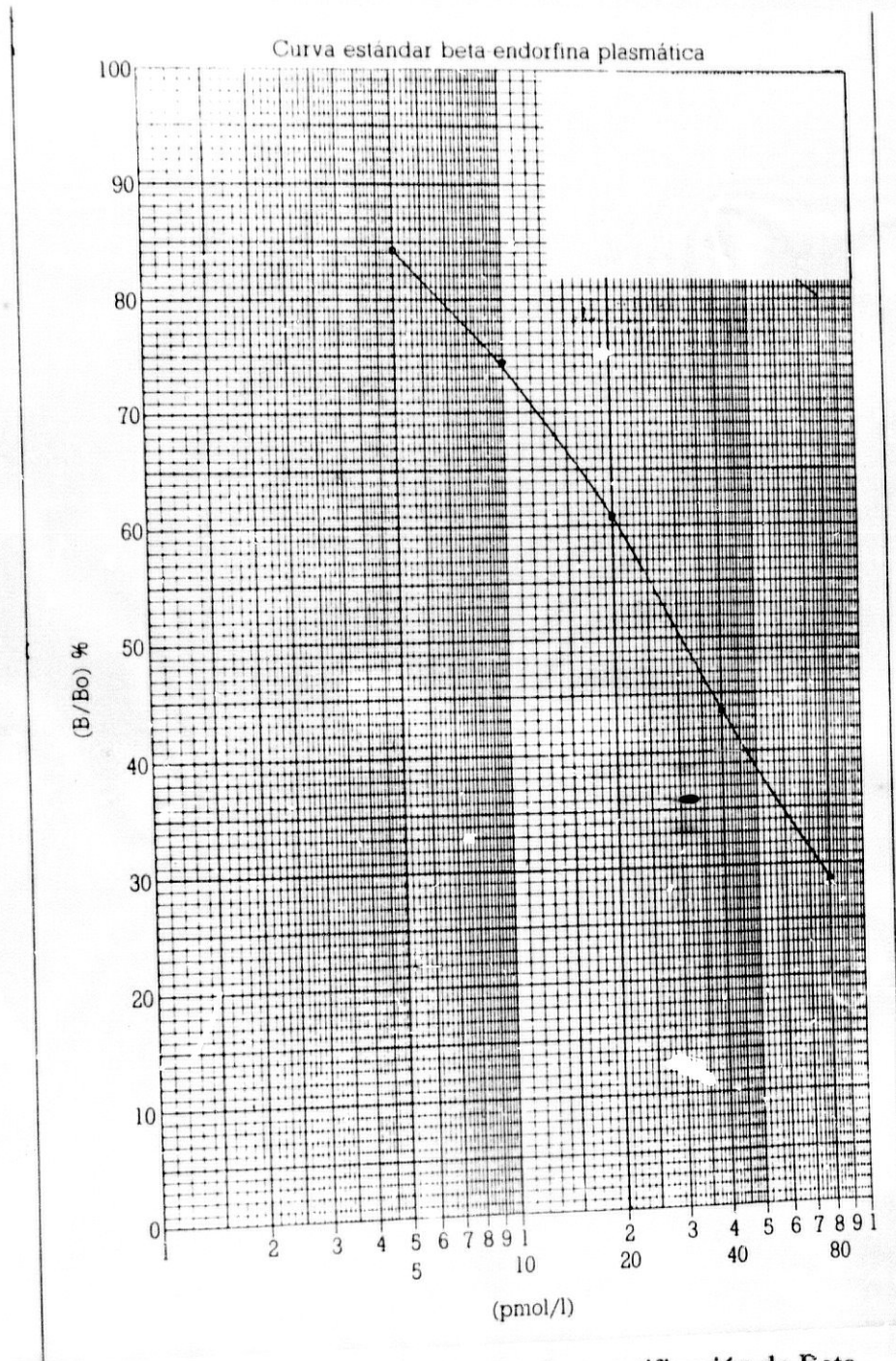


FIGURA 1.- Curva estándar para la cuantificación de Beta-Endorfina del plasma (contador gamma CKG Wallac 1280 Ultragama).

MATERIAL Y METODOS

nera y en el mismo contador gamma que se emplea para el análisis de la beta-endorfina.

CALCULO DE LOS RESULTADOS DEL RIA:

La cuantificación se realiza por comparación con la actividad total. Se calcula: a) Media de los dos valores de la muestra. b) El porcentaje de radiactividad del precipitado respecto a la radiactividad total. Los valores obtenidos del gammacontaje de las muestras problema se trasladan a la curva estandar para cuantificar la concentración de beta-endorfina o ACTH.

VALORACION DE LA TECNICA

BETA-ENDORFINA: El coeficiente de variación (Coeficiente de Variación = Desviación estándar dividido por la media y multiplicado por 100) intraexperimento resultó de 5.25% (Dra. MORALES), en el mismo laboratorio del Departamento de Bioquímica y el interexperimento de 8.24 % (obtenido en el trabajo de la Dra. MOJON y en el presente trabajo).

La sensibilidad de este método es inferior a 3 pmol/l. Con respecto a la especificidad, el anticuerpo frente a beta-endorfina tiene reactividad cruzada con la beta-lipotropina, siendo inferior al 5%, y no tiene con los siguientes péptidos y hormonas: alfa-endorfina, delta-endorfina (D-Ala²)-beta-endorfina, dinorfina, alfa-neo-endorfina, leucina-encefalina, metionina-encefalina, metionina-encefalina, ACTH¹⁻³⁹, ACTH¹⁻²⁴, alfa-MSH, prolactina, LH, FSH, TSH, vasopresina y oxitocina.

HORMONA ADRENOCORTICOTROPA (ACTH): El coeficiente de variación intraexperimento osciló entre el 5 y el 16%, y el interexperimento entre el 22 y el 25%. La sensibilidad del método es de 10 +/- 4 pg/ml. En cuanto a su especificidad, el anticuerpo utilizado posee los siguientes porcentajes de reacciones cruzadas: fragmento 1-16, 3%; fragmento 11-24, 1,5%; beta-endorfina, 1%; gamma-LPH, 0,3%. Sin embargo, para la beta-LPH, alfa-MSH, beta-MSH, fragmento 1-10 y fragmento 25-39, dichas reacciones son negligibles.

TESIS DOCTORAL 38

METODO BIOESTADISTICO.

Los datos paramétricos que definen las características de la casuística (madurez fetal: edad gestacional y peso al nacimiento), los valores que se tuvieron en cuenta para la estimación del grado de sufrimiento fetal agudo (acidosis fetal: pH y lactacidemia (mmol/L) de arteria umbilical; y, el estado vital neonatal, mediante el puntaje del test de V. Apgar al minuto y a los cinco minutos), y las constantes vitales señaladas en la metodología clínica, y las concentraciones plasmáticas de ACTH y beta-endorfina, medidas en pg/ml y pmol/L, respectivamente, y los niveles de beta-endorfina licuoral (pmol/L), según el resultado dado por el radioinmunoensayo, se cotejaron utilizando un AMSTRAD PC1512DD y programas estadísticos apropiados (ABSTAT, EPISTAT). Los tests aplicados para su tabulación y cotejo han sido: Test de rechazo de muestras extremas; estadística básica (media, desviación estándar, error estándar de la media, coeficiente de variación, mediana, moda, valores máximos y mínimos, asimetría y kurtosis); comparación de medias, mediante los test "t" de Student, y cuando se constataron diferencias entre las varianzas (Análisis de la Varianza: ANOVA) se calcularon los grados de libertad por el test de Welch; el test de Mann-Whitney se aplicó para comparación de variables no continuas; análisis y determinación de los coeficientes de correlación "r" de Pearson (método de mínimos cuadrados) entre las variables interrelacionadas; análisis de regresión de orden "N" para establecer o descartar la posible regresión entre cada uno de los neuropéptidos plasmáticos y las variables que según las referencias bibliográficas, podrían influir en sus concentraciones. Se ha utilizado el análisis de regresión múltiple discriminante paso a paso (DRAPEN, 1981) y el proceso de cálculo se ha llevado a cabo (por el Profesor de Bioestadística D. E. SANCHEZ-CANTALEJO RAMIREZ, Facultad de Medicina de la Universidad de Granada) mediante el paquete estadístico BMDP (DIXON, 1983), analizando y correlacionando las concentraciones de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo

ADULFO SANCHEZ MARENCO

MATERIAL Y METODOS

con la edad gestacional, pH de arteria umbilical, test de Apgar a los 5 minutos, días de vida postnatal y tipo respiratorio (respiración espontánea o mecánica-IMV).

En los resultados se señalan los test aplica-

dos y la valoración estadística. En cada tabla, se hace una referencia al pie de la misma como guía para la comprensión e interpretación de los mismos. Todos los valores se expresan como media +/- error estándar de la media.

RESULTADOS

RESULTADOS

VALORACION DE LAS CONCENTRACIONES DE BETA-ENDORFINA Y HORMONA ADRENOCORTICOTROPA EN PLASMA DE CORDON UMBILICAL Y RELACIONES CON EL GRADO DE ESTRES INTRAPARTO O DEPRESION VITAL NEONATAL.

El conjunto de recién nacidos (n:47) con una edad gestacional de 39.47 ± 0.18 semanas y 3413 ± 47 gramos de peso al nacimiento, con un grado de acidosis (pH en arteria umbilical) de 7.20 ± 0.01 y una lactacidemia de 4.39 ± 0.3 mmol/L, tuvieron unas concentraciones plasmáticas de beta-endorfina (beta-EP) de 25.51 ± 2.05 pmol/L y unos niveles medios de hormona adrenocorticotropa (ACTH) de 47.03 ± 3.63 pg/ml.

Los recién nacidos con un grado más intenso de acidosis (n:19) (pH en arteria umbilical inferior a 7.20, valor medio 7.10 ± 0.01 y unos niveles de lactacidemia de 6.42 ± 0.43) tuvieron concentraciones de beta-EP y ACTH significativamente más bajas que los recién nacidos (n:29) de un parto espontáneo y eutócico, de características homogéneas para el grado de madurez, según la edad gestacional [39.58 ± 0.28 semanas versus 39.62 ± 0.23 semanas (t:0.15, p:NS)] y el peso al nacimiento [3426 ± 65 gramos versus 3377 ± 65 gramos (t:0.49, p:NS)]. (pH en arteria umbilical superior igual a 7.20, valor medio 7.26 ± 0.008 y niveles de lactacidemia de 3.01 ± 0.04 mmol/L); beta-EP: 19.04 ± 4.28 pmol/L versus 29.87 ± 1.34 pmol/L (t:2.76, $p < 0.01$) y ACTH: 30.97 ± 5.60 pg/ml versus 58.21 ± 3.97 pg/ml (t:3.98, $p < 0.001$) (Tabla VII) (Figuras 2,3,4 y 5). Estas concentraciones de los neuropéptidos analizados se asocian con el grado de depresión vital al nacimiento. Los neonatos con mayores tasas plasmáticas de beta-endorfina y ACTH tuvieron unos rangos del test de Apgar al minuto y a los

cinco minutos entre 7-10 y 9-10 puntos, frente al grupo de neonatos con niveles plasmáticos de neuropéptidos más elevados cuyos rangos del test de Apgar fueron de 1-9 y 3-10, respectivamente (el test "U" de Mann-Whitney demostró que la diferencia era significativa, tanto al minuto como a los cinco minutos, con una $p < 0.01$). Los niños con pH de arteria umbilical igual o superior a 7.20, y altas tasas plasmáticas de beta-endorfina y ACTH precisaron una reanimación tipo I o II, en tanto que 6 de los 19 neonatos afectados de una acidosis intraparto más severa (pH de arteria umbilical inferior a 7.20), y bajas concentraciones plasmáticas de estos neuropéptidos recibieron, debido a la importante depresión vital, una reanimación tipo III-IV (el test exacto de Fisher, para comparación de proporciones, resultó estadísticamente significativo, con una $p = 0.002526$).

La lactacidemia de cordón umbilical se correlacionó directamente con el pH de arteria umbilical (n:47, $r:0.82$, $p < 0.0005$; regresión: $y = 135.43 - 18.21x$) (Figura 6).

Se constató una correlación lineal simple y directa de las concentraciones de beta-endorfina y hormona corticotropa del cordón umbilical (n:47, $r:0.77$, $p < 0.001$; regresión: $y = 6.11 + 0.41x$) (Figura 7).

Los niveles plasmáticos de beta-EP de cordón umbilical se correlacionaron de forma significativa con la edad gestacional (n:47, $r:0.46$, $t:3.50$, $p < 0.001$; regresión: $y = 5.21x - 180.72$)

Los niveles plasmáticos de beta-endorfina siguen una regresión de orden "N" ("2") con las tasas plasmáticas de lactato (n:47, $r = 0.76$; función o regresión: $y = 0.14 + 15.96x - 1.86x^2$) (Figura 8).

RESULTADOS

VALORACION DE LA BETA-ENDORFINA EN LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO Y CAPACIDAD DE MANTENER MOVIMIENTOS RESPIRATORIOS EN EL PERIODO NEONATAL EN NEONATOS AFECTOS DE UN SINDROME DE "SUFRIMIENTO CEREBRAL" AGUDO-SUBAGUDO.

Las concentraciones medias de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo fueron de 257.67 +/-40.27 pg/ml. El análisis de regresión múltiple discriminante correlacionando los niveles de beta-endorfinorraquia con la edad gestacional, pH de arteria umbilical, puntaje del test de Apgar, días de vida postnatal y capacidad de mantener movimientos ventilatorios, mostró



que la radioinmunoactividad beta-endorfinérgica no estuvo relacionada con la edad gestacional, el puntaje del test de Apgar o los días de vida postnatal, y que guardaba relación con el grado de acidosis que el recién nacido hubiera tenido en el momento del parto (pH de arteria umbilical) y con la capacidad de mantener movimientos respiratorios, según la expresión: $Z = -2726.54 + 393.5X + 190.36Y$, siendo Z la concentración de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo; X igual al pH de arteria umbilical; y, donde Y es igual a 1 para aquellos neonatos que mantienen respiración espontánea e Y igual a 0 para los recién nacidos con depresión respiratoria central con soporte ventilatorio (IMV).

TABLA VII.-CONCENTRACIONES PLASMATICAS DE BETA-ENDORFINA Y HORMONA ADRENOCORTICOTROPA EN CORDON UMBILICAL DE RECIEN NACIDOS SEGUN EL GRADO DE ACIDOSIS INTRAPARTO

n	28	19	t	p(\$)
pH	≥7.20	<7.20		
* MADUREZ FETAL				
EDAD GESTACIONAL (semanas)	39.62±0.23	39.58±0.28	0.15	NS
PESO AL NACIMIENTO(gramos)	3377±65	3426±65	0.49	NS
* GRADO DE ACIDOSIS				
pH arteria umbilical	7.26±0.008	7.10±0.01	9.99	<0.0005
LACTACIDEMIA (mmol/L)	3.01±0.04	6.41±0.43	9.20	<0.0005
* NEUROPEPTIDOS PLASMATICOS				
BETA-ENDORFINA (pmol/L)	29.87±1.34	19.04±4.28	2.76	<0.01
ACTH (pg/ml)	58.21±3.97	30.97±5.60	3.98	<0.001
* DEPRESION VITAL				
TEST DE APGAR	RANGOS	U1	U2	p(#)
Al minuto	7-10	1-9	33.5	498.5 <0.01
A los 5 minutos	9-10	3-10	108.0	424.0 <0.01
* TIPO DE REANIMACION				
I-II	28	13		
III-IV	0	6		p=0.002526(&)

(\$):Test "t" de Student; (#): Test de Mann-Whitney; (&):Test exacto de Fisher.

CORDON UMBILICAL

-  (n:28) pHau \geq 7.20
-  (n:19) pHau < 7.20

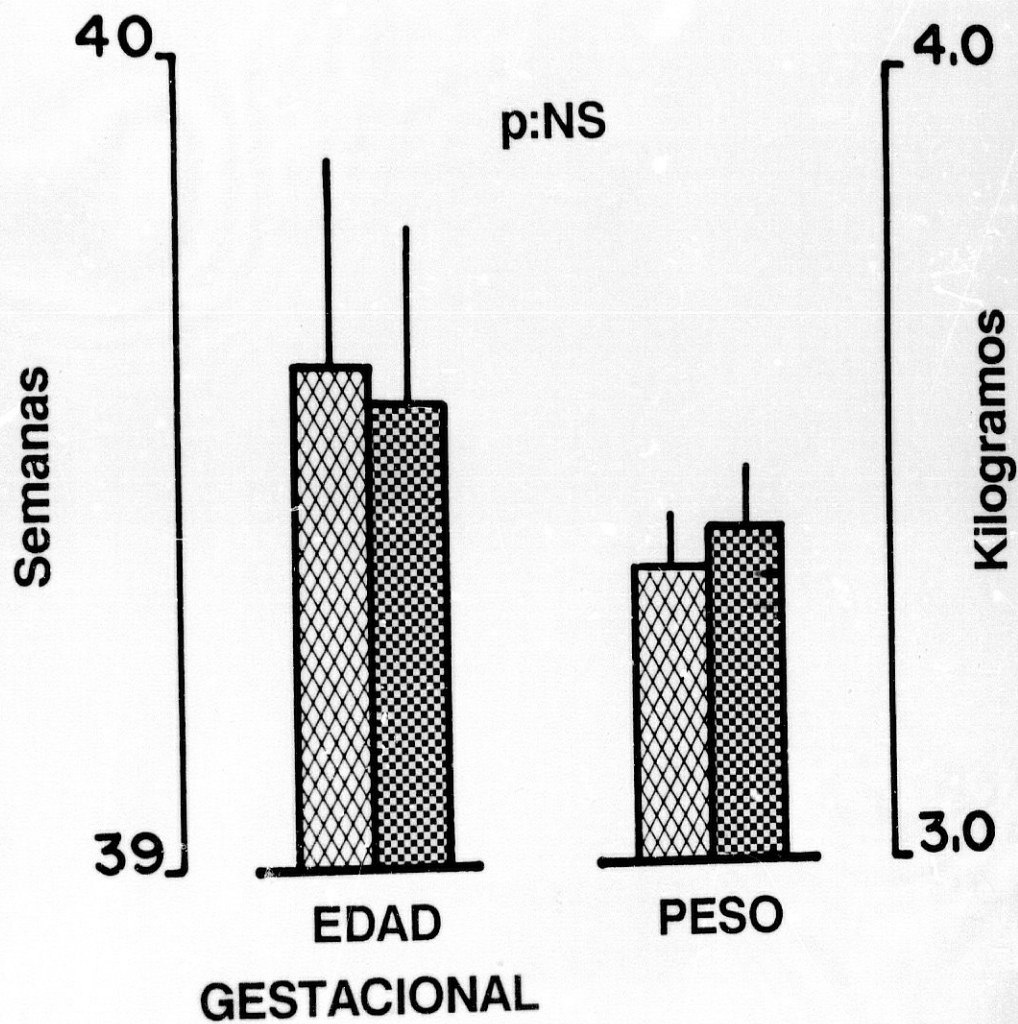




FIGURA 2.- Representación gráfica de los valores medios \pm SEM de la edad gestacional y el peso al nacimiento de los recién nacidos con estrés normal del parto (n:28; pH de arteria umbilical $>$ 7.20) y con acidosis intraparto (n:19; pH de arteria umbilical $<$ 7.20). Nótese la homogeneidad de la muestra para esta característica.

CORDON UMBILICAL

 (n:28) pHau \geq 7.20
 (n:19) pHau < 7.20

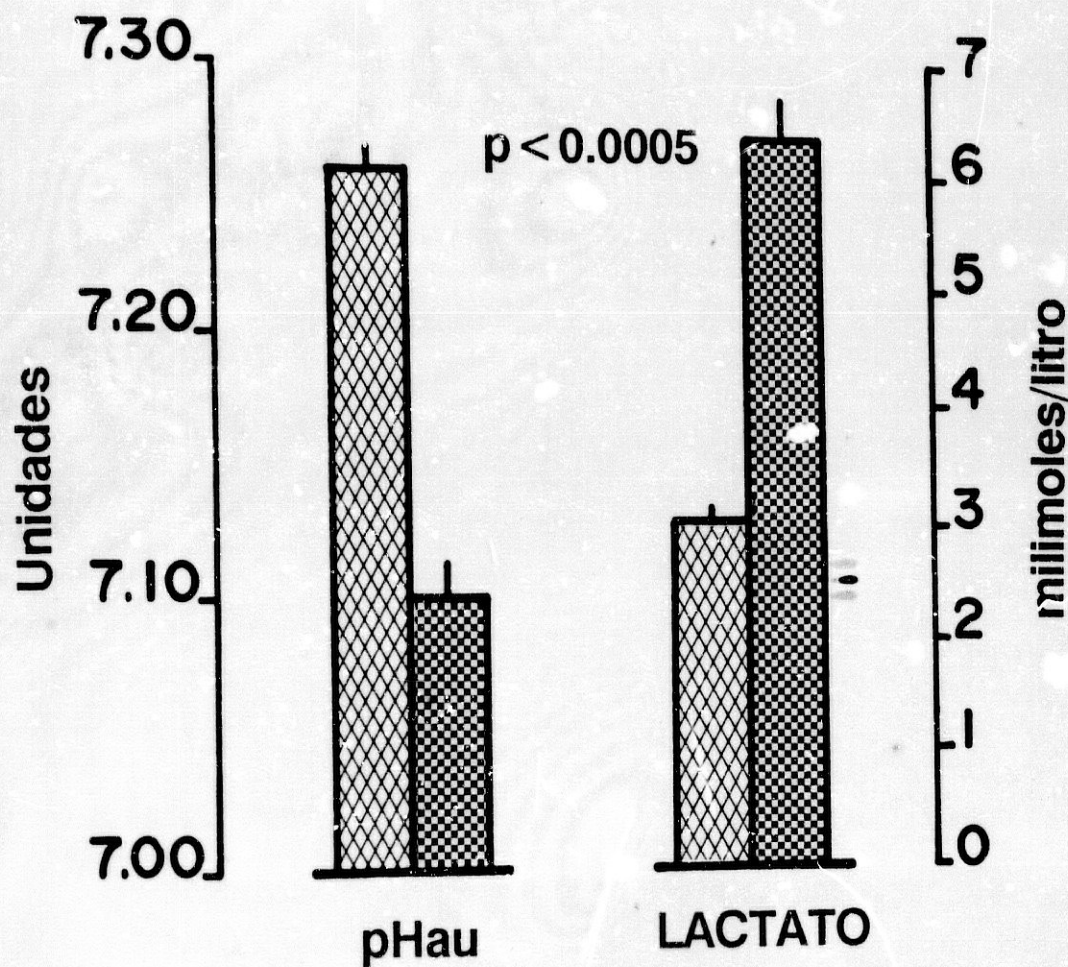




FIGURA 3.- Representación gráfica de los valores medios \pm SEM del pH de arteria umbilical (grado de hipoxia intraparto) y de los niveles de lactacidemia en los recién nacidos con estrés normal del parto (n:28; pH de arteria umbilical > 7.20) y con acidosis intraparto (n:19; pH de arteria umbilical < 7.20).

CORDON UMBILICAL

-  (n:28) pH_{Hau} ≥ 7.20
-  (n:19) pH_{Hau} < 7.20

TEST "U" DE MANN-WHITNEY

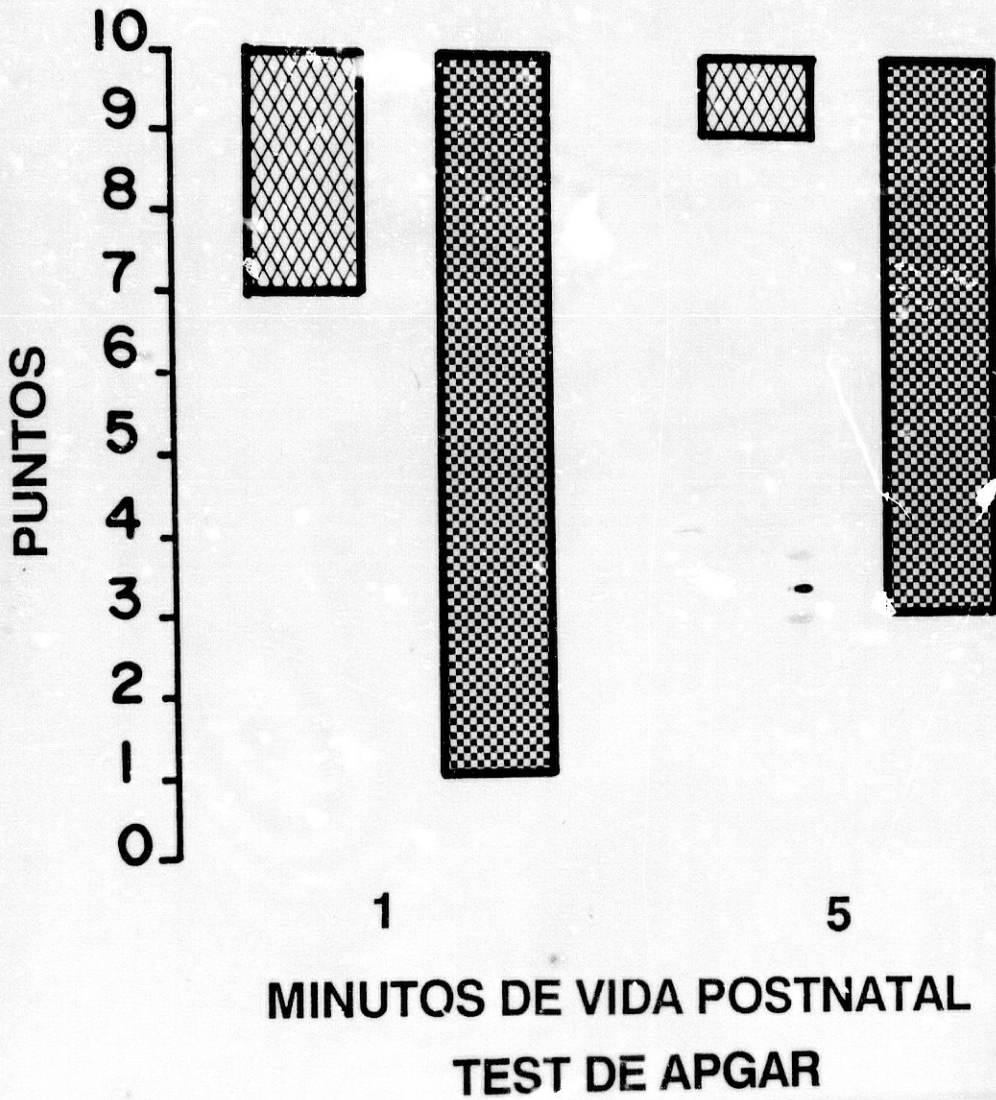




FIGURA 4.- Representación gráfica de los rangos del puntaje del test de % Apgar (cuantificando la depresión vital o de las funciones cardiocirculatorias, respiratorias y neurológicas, de los recién nacidos con un estrés normal del parto (n:28; pH de arteria umbilical > 7.20) y con acidosis intraparto (n:19; pH de arteria umbilical < 7.20).

CORDON UMBILICAL

 (n:28) pHau \geq 7.20
 (n:19) pHau < 7.20

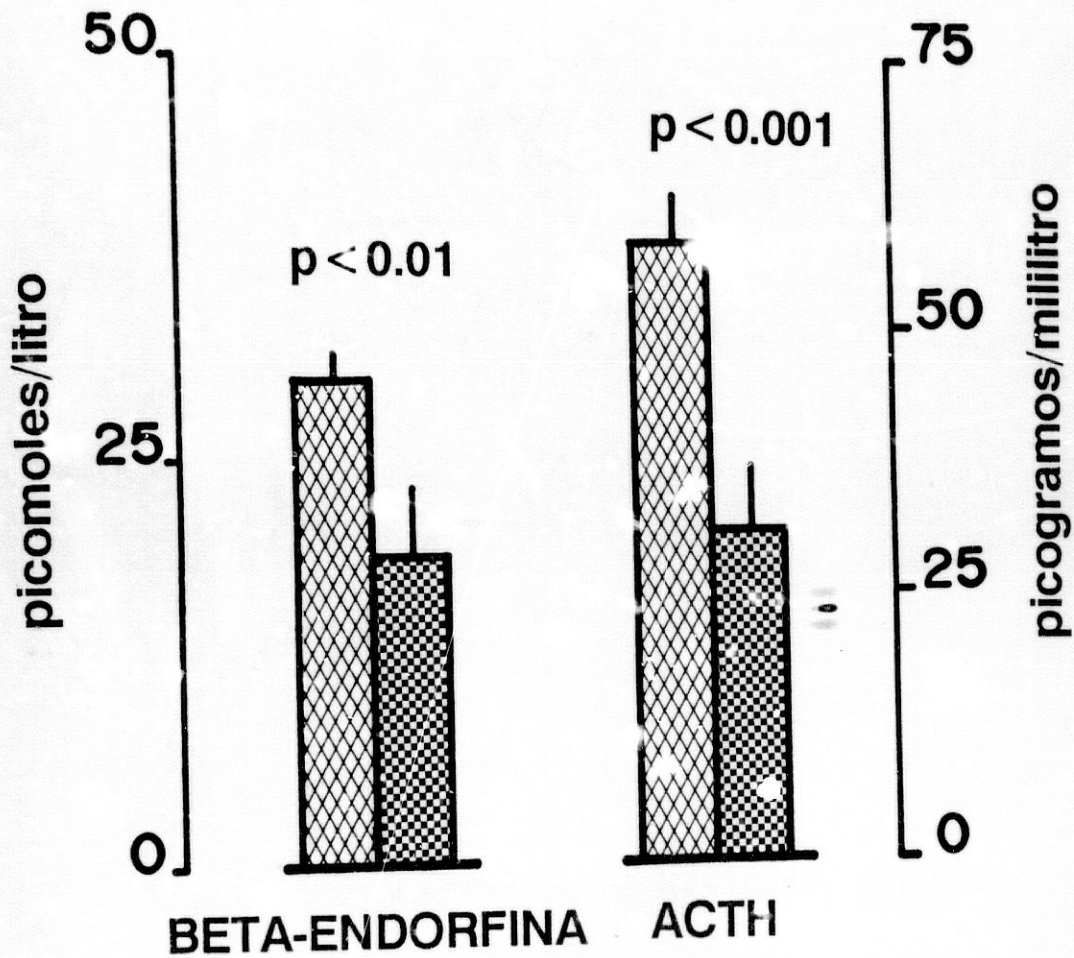


FIGURA 5.- Representación gráfica de la inmunoreactividad plasmática de ACTH y Beta-Endorfina (media \pm SEM) de los recién nacidos con estrés normal del parto (n:28; pH de arteria umbilical $>$ 7.20) y con acidosis (n:19; pH de arteria umbilical $<$ 7.20). Nótese que los recién nacidos con acidosis severa (y depresión vital neonatal más intensa) tienen concentraciones de ACTH y Beta-Endorfina significativamente más bajas.

DISCUSION

confirmado, asimismo, que no hay correlación entre las concentraciones del plasma con las líquidas, como ya han señalado otros autores (SANKARA, 1986).

A la luz de los resultados del presente estudio, cabe hacer una doble consideración: a) Aquellos neonatos que, en el contexto de un "síndrome de sufrimiento cerebral", mantienen una buena capacidad de regular espontáneamente los movimientos respiratorios, son los que habrían soportado una menor agresión hipóxica, al considerar el grado de acidosis (pH de arteria umbilical, que refleja el tiempo y/o intensidad de la hipoxia) y por tanto una menor agresión cerebral, que a su vez se manifiesta con una alta capacidad de respuesta a la situación de estrés, a juzgar por los altos niveles de beta-endorfinorraquia (TONELLI, 1988); b) Aquellos otros que tuvieron una acidosis más

intensa en el momento del parto y manifestaron una depresión respiratoria central, aún mostrando una hiperactividad tónica del sistema beta-endorfinérgico, tuvieron concentraciones del neurotransmisor en el líquido cefalorraquídeo más bajas. Si la beta-endorfina es un inhibidor que juega algún papel en esta depresión respiratoria, fenómeno que requiera más estudios, podría deberse a un aumento de la sensibilidad al neuropéptido de los grupos neuronales que en el tronco cerebral componen el centro respiratorio (formando circuitos de "feed-back" cortos en relación con los diversos niveles del mecanismo que regula la fase inspiratoria central de la respiración), probablemente como consecuencia del daño hipóxico-isquémico en el momento del parto o en el contexto de otras agresiones cerebrales en el periodo neonatal (BRAND, 1977; CARREIRA-MONTEIRO, 1985).

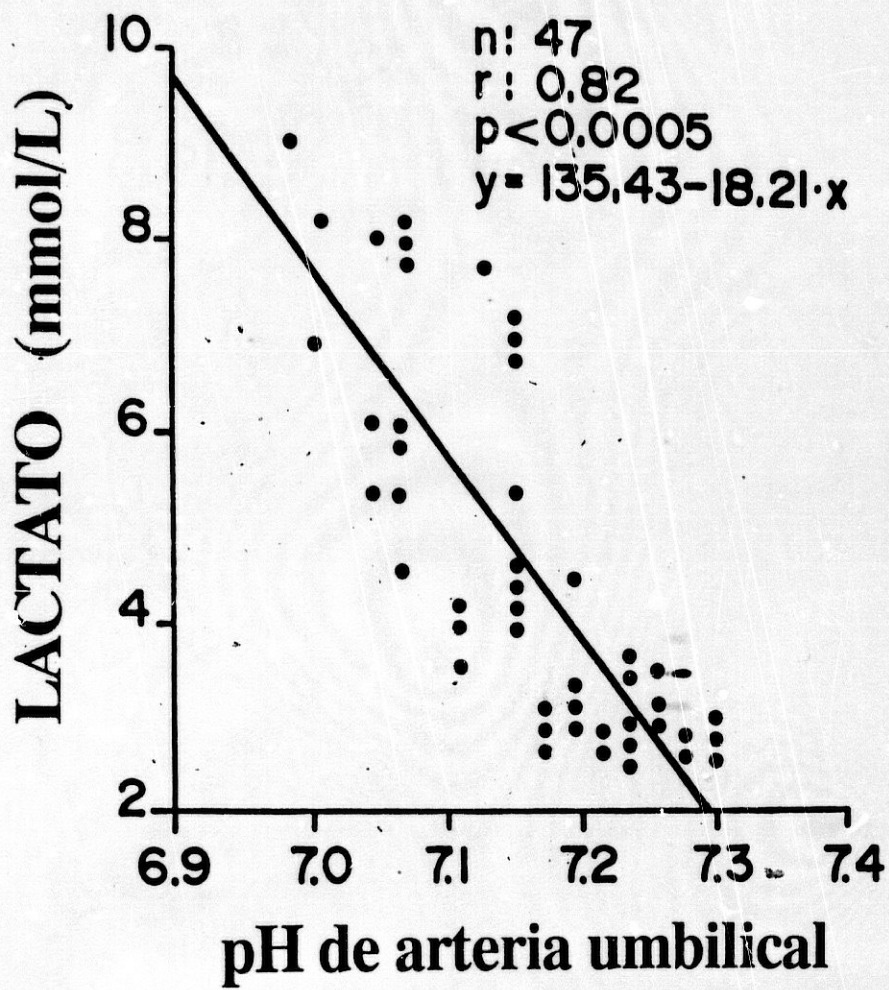


FIGURA 6.- Representación gráfica de la correlación lineal simple y directa de la lactacidemia con el pH de arteria umbilical.

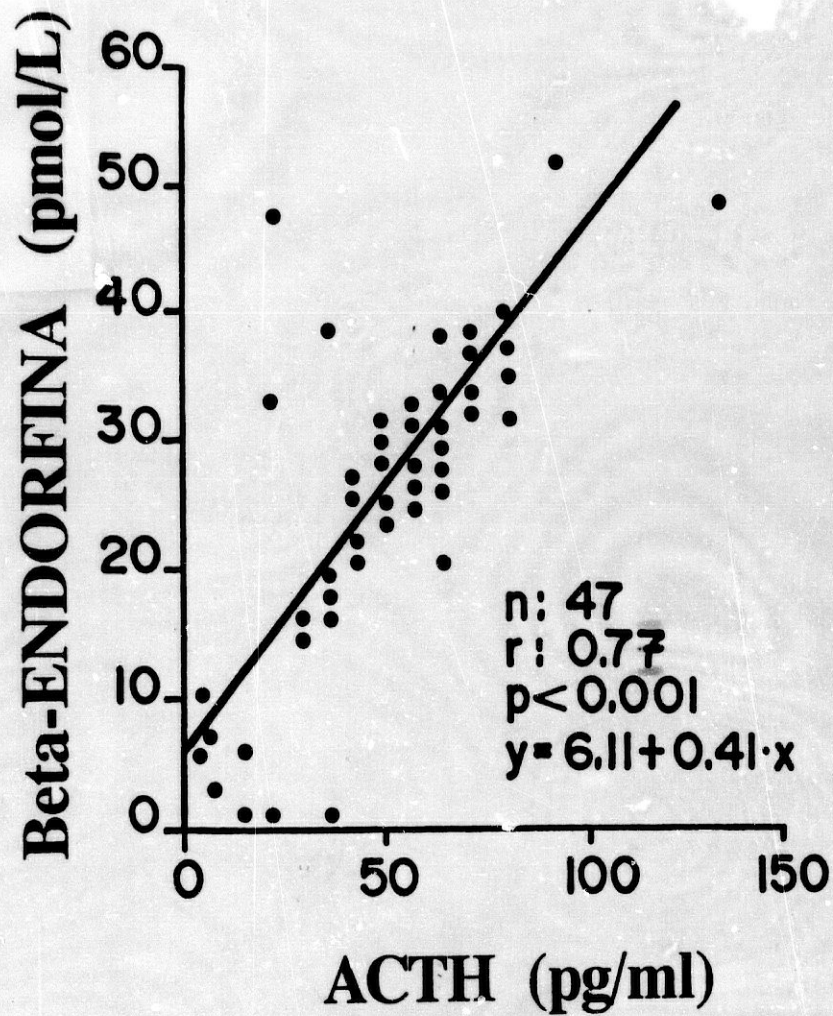


FIGURA 7.- Representación gráfica de la correlación lineal existente entre ambos neuropéptidos adenohipofisarios (ACTH y Beta-endorfina) lo que refleja su origen y secreción común ante el estímulo hipóxico.

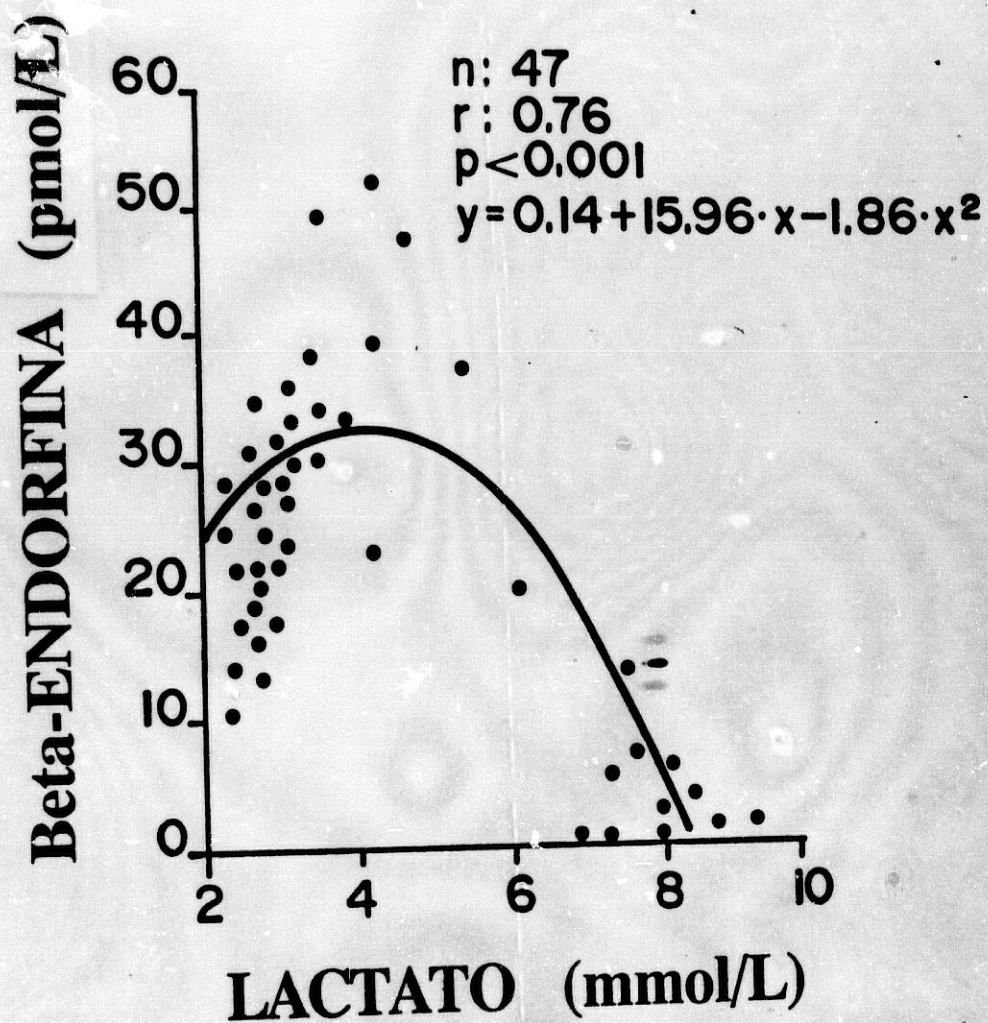


FIGURA 8.- Representación gráfica de la regresión de segundo orden que siguen las concentraciones plasmáticas de Beta-Endorfina con el grado de hipoxia intraparto medida por los niveles de lactacidemia.

DISCUSSION

DISCUSION

CONSIDERACIONES

GENERALES

Las concentraciones plasmáticas de neuropéptidos hipofisarios relacionados con las situaciones de alarma como la ACTH y su familia de péptidos, entre las que cabe destacar la beta-endorfina, están siendo objeto de recientes e intensas investigaciones en múltiples trabajos experimentales en animales y en humanos. No debería sorprender esta actitud científica y era, por supuesto de esperar, como acontece habitualmente después del descubrimiento de una nueva sustancia de la que se desconocía su ontogenia, su estructura y sus funciones biológicas tanto en el sistema nervioso central como en otros tejidos periféricos. Los estudios aportados por diferentes grupos de trabajo han contribuido al descubrimiento de los receptores opiáceos y de estas mismas sustancias (PERTSNYDER, 1973; TERENIUS, 1974; HUGHES, 1975a; HUGHES, 1975b; LI, 1976; AUSTIN, 1977; MAINS Y EIPPER, 1977; NAKANISHI, 1979; NUMA, 1981; KAKIDANI, 1982; FISCHLI, 1982; ROSSIER, 1982; GUBLER, 1982; COOMB, 1982 Y NODA, 1982).

Se sabe que el ejercicio eleva las concentraciones plasmáticas de las sustancias que integran este sistema de neuropéptidos y que durante su práctica se produce una situación confortable, por el contrario, en el sujeto habituado, cuando no puede realizarlo se crea un estado de ánimo caracterizado por irritabilidad, frustración y displacer. La influencia del sistema endorfinérgico parece ser enorme como ha sido demostrado, pero poco se sabe acerca de otras propiedades farmacológicas de estos neuropéptidos en el sistema nervioso central,

sus efectos sobre la depresión respiratoria, al margen de los efectos biológicos y posibles papeles fisiológicos que se le están atribuyendo tales como analgesia, regulación térmica, control del apetito, efectos sobre la función reproductiva y la conducta sexual, efecto hipotensor, efecto sobre la regulación hormonal hipotálamo-hipofisaria y sobre la memoria, modulación de la respuesta inmune, estados catatónicos y efectos convulsivantes (BERGMANN, 1987; ROSEMBLATT, 1987). Los opiáceos endógenos y la administración exógena de los mismos podrían ejercer efectos distintos. LACOUMENTA y col. (LACOUMENTA, 1987), han comprobado que la administración de beta-endorfina humana sintética, en la inducción anestésica, con una elevación de aproximadamente 100 veces las concentraciones plasmáticas basales no han influido de forma significativa el metabolismo hidrocarbonado, o las tasas plasmáticas de hormonas tales como ACTH, GH, insulina y cortisol, y tampoco han producido cambios espectaculares en las variables de la función cardiovascular. El experimento ha permitido comprobar también que hay una completa disociación entre las concentraciones que se alcanzan en el plasma y en el líquido cefalorraquídeo.

Sus efectos sobre el control respiratorio, y sus influencias sobre el sistema cardio-circulatorio con disminución de la frecuencia cardíaca y de la tensión arterial, han hecho que los investigadores en el campo de la neonatología le estén prestando una especial atención a este sistema de neuropéptidos (HINDMARSH, 1985), sobre todo en el periodo perinatal y el parto, cuando se establece una situación irremediablemente estresante y con un potencial riesgo vital (WARDLAW, 1979; FLETCHER, 1980; GENAZZANI, 1981; GOLAND, 1981; MOSS, 1982; SHAABAN, 1982; FACCHINETTI, 1983; FURO-

DISCUSION

HASHI, 1982; KOFINAS, 1985; BAYES, 1985; DAVIDSON, 1986; MOJON, 1987; BOTET, 1988). Este interés actual viene reafirmado por el relativo gran número de comunicaciones acerca de este grupo de neuropéptidos estudiado en recién nacidos que han sido aportadas al "XI European Congress of Perinatal Medicine", celebrado en Roma el mes de abril de 1988.

Nuestro grupo de trabajo inició la andadura del estudio en este fascinante campo de los neuropéptidos por sus efectos depresores sobre la respiración (CHERNICK, 1980; KUIK, 1981; ORLOWSKY 1982a, 1986; MYER, 1985, 1987; BAYES, 1986a, 1986b; SANKARAN, 1986;) y por su probable participación en las situaciones de fracaso cardio-circulatorio (LEMAIRE, 1978; HOLADAY, 1978; FADEN, 1979; DIRKSEN, 1980, 1981; FURMAN, 1984) al ser éstos estados fisiopatológicos habituales en los recién nacidos afectados de un intenso estrés en el parto (BAYES-MOJON 1985, 1986, 1987). Los estudios previos se han realizado fundamentalmente en recién nacidos a término, con pesos adecuados a la edad gestacional y que reunían los criterios obstétricos y neonatológicos de riesgo normal y en ausencia de parámetros clínicos y biológicos de hipoxia grave intraparto. Por otra parte la casuística era, obligadamente, reducida por la limitación de medios humanos y materiales, a pesar de haber recibido pequeñas ayudas económicas tanto de organismos oficiales (Ministerio de Educación y Ciencia) como de fundaciones privadas de ayuda a la investigación (Fundación Heinz-Koch). Un inconveniente adicional, no solo para nuestro grupo de trabajo, sino para todos aquellos equipos inmersos en la investigación neonatal de estos neuropéptidos, es el volumen de las muestras de plasma que se precisan para realizar las técnicas de radioinmunoensayo que cuantifican su actividad. Una dificultad más, insoslayable en muchas ocasiones, es la limitación impuesta por el propio equipo investigador al tener en cuenta los "aspectos éticos en la investigación pediátrica" emanados del Código de Nuremberg de 1947, la Declaración de Helsinki de 1964, la Declaración de la Asociación Médica Mundial de 1975, de la "American Medical Association" de 1970, del "Department of

Health, Education and Welfare" de 1971, de la "National Commission for the Protection of Human Subjects of Biomedical and Behavioral Research" de 1977, del Comité Asesor Biomédico del Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas que bajo los auspicios de la OMS y de la UNESCO viene desarrollando su actividad desde 1976, y que recientemente la Asociación Española de Pediatría ha retomado y analizado en una Ponencia celebrada en el XVI Congreso Español de Pediatría y difundido como órgano oficial a todos sus miembros (SANCHEZ-VILLARES, 1985). En esta misma ponencia se revisan los aspectos éticos en la investigación neonatal (DOMENECH, 1985). Por ello, si no se quieren sortear éstos, las casuísticas serán siempre muy reducidas.

Todavía hoy se conocen con inexactitud las concentraciones plasmáticas en el momento del parto y la evolución de las mismas en las horas que siguen a este evento, sobre todo en recién nacidos que no han completado la gestación normal. Además estos niveles plasmáticos de neuropéptidos no se han podido correlacionar estrictamente con los múltiples factores que pueden influir en su síntesis, almacenamiento hipofisario, secreción, funciones fisiológicas y catabolismo, tales como la madurez fetal y grado de estrés intraparto.

Los resultados obtenidos en el presente estudio permiten hacer una serie de consideraciones que podrán aceptarse unas veces en su forma más aseverativa (tesis) y las más, tan solo deberán ser tomadas como acepción subjetiva y, en cualquier caso, campo abonado para proseguir en esta línea de investigación (hipótesis o especulaciones).

ACTH Y BETA-ENDORFINA EN EL RECIEN NACIDO EN EL MOMENTO DEL PARTO

Durante el parto eutócico se registran concentraciones elevadas de neuropéptidos hipofisarios.

ADULFO SANCHEZ MARENCO

rios, ACTH y beta-Endorfina, en la sangre del cordón umbilical, como respuesta al estado de alarma, pero cuando la hipoxia es intensa o prolongada los niveles plasmáticos de dichos neuropéptidos se hallan significativamente descendidos.

En las tablas III y IV de la revisión bibliográfica recogida en el capítulo de introducción, se recopilan los valores de beta-endorfina y ACTH, respectivamente, determinados por diversos grupos de investigadores en muestras de cordón umbilical (CACCIARI, 1976; WARDLAW, 1979; STARK, 1979; GOLAND, 1981; GENAZANI, 1981; KIMBALL, 1981; FURUHASHI, 1982; SHAABAN, 1982; FACHINETTI, 1982, 1983; MOSS, 1982; DETRICK, 1985; KOFINAS, 1985; RUTH, 1986; FURUHASHI, 1986; ZIVNY, 1986; RAISANEN, 1986; MOJON, 1987; BACIGALUPO, 1987). Las concentraciones de beta-endorfina en sangre de cordón umbilical aportadas por estos autores son ampliamente variables y cuantificadas entre 40.9-11.1 pg/ml y 523-30 pg/ml. Esta enorme variabilidad probablemente esté justificada por las diferencias en las técnicas y reactivos utilizados para la determinación de beta-endorfina. Cuando se utilizan técnicas sin extracción previa al radioinmunoensayo, o el anticuerpo reactante presenta una alta inmunoreactividad cruzada con otros neuropéptidos de la familia derivada de la proopiomelanocortina, se cuantificarían erróneamente una proporción de sustancias como actividad beta-endorfina. Otros factores que podrían justificar, en alguna medida, las diferentes concentraciones de ACTH y beta-endorfina determinadas en cordón umbilical por los diversos autores, serían debidos a que las casuísticas no son superponibles en el 100 % de los casos.

Un aspecto común de esta serie de trabajos es que todos cifran la beta-endorfina, determinada en muestras de cordón umbilical, más elevadas que en el adulto y que las obtenidas pocas horas después del parto, en el curso del periodo neonatal (FACHINETTI, 1982; HINDMARSH, 1983, 1984; RUTH, 1986; ZIVNY, 1986; MOJON, 1987; DAVIDSON, 1987).

ADULFO SANCHEZ MARENCO

ACTH Y BETA-ENDORFINA: MADUREZ FETAL Y ESTRES DEL PARTO

Las elevadas concentraciones de ACTH y su familia de neuropéptidos en la sangre de los recién nacidos en el momento del parto, se han relacionado con el estrés, y éste se cuantifica según el grado de acidosis fetal, resultado de la intensidad y duración de una situación de hipoxia e hipercapnia durante el parto, y de la depresión vital neonatal, estimada por el puntaje del test de V. Apgar (WARLAW, 1979, 1981; FLETCHER, 1980; GOODLIN, 1981; CHERNICK, 1980, 1982; STARK, 1982; SHAABAN, 1982; LAUNGANI, 1985; FACHINETTI, 1983; RUTH, 1986; DAVIDSON, 1987). También se han querido relacionar con la capacidad de respuesta neuroendocrina, según la madurez fetal, valorada por la edad gestacional y/o el peso al nacimiento (WINTERS, 1978; FLETCHER, 1980; STARK, 1981; BRUBAKER, 1982; FURUHASHI, 1982; HINDMARSH, 1984; BAYES, 1985; RUTH, 1986).

En el presente estudio, se ha podido constatar que existe una correlación lineal simple de los niveles plasmáticos de beta-endorfina (y ACTH) del cordón umbilical con la edad gestacional.

En el feto ovino se han demostrado (WARLAW, 1981) altos niveles de beta-endorfina y beta-LPH circulantes, que se incrementaban marcadamente con la hipoxia fetal controlada. Posteriormente también se comprobó una respuesta incrementada para la hipoxia con la maduración fetal, de forma que los fetos mayores tenían concentraciones más altas de beta-endorfina con la hipoxia, que los fetos más jóvenes (STARK, 1982). En el niño recién nacido existe una relación inversa altamente significativa entre el pH y la pO₂ de la arteria umbilical, y las concentraciones plasmáticas de beta-endorfina (WARLAW, 1979). Estos autores concluyeron que la hipoxia y la acidosis fetal

TESIS DOCTORAL 53

DISCUSION

secundaria eran probablemente un estímulo para la liberación de beta-endorfina. Esta hipótesis fué apoyada posteriormente, demostrándose que el estrés intraparto asociado con la hipoxia fetal y evidenciado por desaceleraciones variables tardías, bradicardia prolongada o acidosis fetal, se asociaba con elevaciones de las concentraciones de beta-endorfina y beta-LPH en el plasma del cordón umbilical (SHAABAN, 1982).

También se han demostrado concentraciones de beta-endorfina elevadas en el líquido amniótico en embarazos complicados con estrés fetal (GAUTRY, 1977) y en prematuros con retraso del crecimiento intrauterino (DIVERS, 1982), aunque después RUTH (1986) no encontró esa asociación entre el retraso del crecimiento intrauterino con insuficiencia placentaria y la elevación de beta-endorfina. Apoyando la hipótesis de que la asfixia perinatal se asocia con un incremento de la actividad del sistema opiáceo en el sistema nervioso central. LAUNGANI (1985) encontró una correlación inversa entre las puntuaciones del test de Apgar al minuto y los niveles de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo. También en plasma, FACCHINETTI (1983) y FLETCHER (1980), encontraron niveles elevados de beta-endorfina en neonatos con puntuaciones de Apgar bajas, aunque no han sido confirmadas por otros (MOSS, 1986; RUTH, 1986; MOJON, 1987).

Todavía existen ciertas dudas sobre la influencia de la madurez fetal en la capacidad de síntesis y secreción de beta-endorfina y ACTH, existiendo aportaciones contradictorias en este sentido. FURUHASHI y col. (1982) aportan una correlación lineal simple, estadísticamente significativa, entre el peso al nacimiento, tomado como parámetro de madurez fetal, y los niveles plasmáticos de ACTH y beta-endorfina.

HINDMARSH y col. (1984), no pudieron demostrar una correlación lineal simple entre la edad gestacional y los niveles de beta-endorfina en el cordón umbilical de un grupo de recién nacidos con sufrimiento fetal agudo, cuyo rango de edad estaba entre las 27 y 38 sema-

nas. Sin embargo, sí pudieron establecer una relación lineal simple entre la edad gestacional (rango 26- 41) y la beta-endorfina determinada a los 3.4 1.3 días de vida, en un grupo de neonatos patológicos.

WINTERS y col. (1978), determinaron concentraciones de ACTH en el cordón umbilical de recién nacidos prematuros más elevadas que en recién nacidos a término. En el estudio que aquí se discute, las concentraciones plasmáticas de neuropéptidos hipofisarios determinados en el cordón umbilical no apoyan esta afirmación, pues los niveles de ACTH y beta-endorfina se elevan con la edad gestacional.

FLETCHER y col. (1980) encontraron una relación inversa entre el peso al nacimiento y la beta-endorfina (ELI) en sangre fetal, y emitieron la hipótesis de que los niveles de beta-endorfina fetal van descendiendo conforme el feto aumenta en tamaño y madurez. Está bien establecida la correlación lineal simple y directa existente entre el tiempo de gestación y el peso fetal. Sin embargo, tampoco se ha podido establecer una correlación simple entre las tasas plasmáticas de ACTH y beta-endorfina y los pesos de los neonatos.

STARK y col. (1981), en fetos de cordero sometidos a estímulos hipóxicos encuentra una menor respuesta en la elevación de beta-endorfina en los fetos menores de 130 días que en los mayores, estableciendo una relación entre edad gestacional y capacidad de secreción de beta-endorfina como respuesta al estrés. Cabe señalar aquí que no siempre es posible, y a veces, ni conveniente traspasar sin más los resultados de la investigación experimental en animales, al feto o recién nacido humano.

BRUBAKER y col. (1982) han demostrado que no existe correlación entre la edad gestacional y el contenido hipofisario de ACTH y alfa-MSH. Sin embargo, constatan un incremento de la beta-endorfina conforme avanza la edad gestacional del feto. El análisis de la ACTH y beta-endorfina y del índice beta-endorfina/ACTH en sangre periférica en este estudio, de recién nacidos cuyo rango de edad gestacional osci-

l6 entre 27 y 42 semanas, demostr6 que los reci6n nacido afectados de una agres6n hip6xica intraparto, con acidosis, hipercapnia y depresi6n vital neonatal, con bajos puntajes del test de Apgar, presentan un notable descenso de la actividad del sistema beta-endorfin6gico en el periodo de transici6n-adaptaci6n a la vida extrauterina en el periodo neonatal inmediato-precoz, con bajas tasas plasm6ticas de beta-endorfina y un descenso significativo del 6ndice beta-endorfina/ACTH, siendo este fen6meno m6s acusado en los neonatos m6s maduros (MARTIN, 1988). Estos datos son discordantes con esta aseveraci6n de BRUBAKER, y solo cabria especular que el estr6s del parto depleciona la hip6fisis de beta-endorfina o que la actividad sint6tica se halle disminuida, si no se tiene en cuenta que la utilizaci6n perif6rica puede estar aumentada, aspecto este 6ltimo del que existe un desconocimiento casi absoluto. Con mayor soporte cient6fico, podr6a considerarse otro factor adicional si se tiene en cuenta la observaci6n de WATSON y col. (WATSON, 1987) de la existencia de un "feedback" negativo consecutiva la elevaci6n de los niveles plasm6ticos de cortisol debio a secreci6n hipofisaria de ACTH y beta-endorfina, estimulada por la administraci6n de "corticotropin releasing factor", con un descenso posterior de ACTH y su familia de neurop6ptidos.

Cabe hacer alguna consideraci6n de estos resultados que, en alguna medida, y haciendo un juicio precipitado de los mismos, podrian ser mal interpretados, ya que "a priori" parecen contradecir muchas de las afirmaciones que han sido hechas en relaci6n a la capacidad de respuesta neuroendocrina en el curso de una agres6n hip6xica que puede conllevar un da6o cerebral m6s o menos inmediato y disfunciones en el eje hipot6lamo-hipofisario, detectables a trav6s del estudio de los neurop6ptidos circulantes en el plasma.

En 1985, BAYES y MOJON, de la Universidad de Granada, en un estudio realizado en neonatos, sin datos obst6tricos y neonatales de riesgo, nacidos a t6rmino de un parto eut6cico, y con unos valores de pH en arteria umbilical dentro de los l6mites aceptados como normales

(pH > 7.20) y en ausencia de depresi6n vital neonatal (test de Apgar a siete puntos al minuto y a los cinco minutos), pudieron constatar variaciones de los niveles de ACTH, y sobre todo, elevaciones de las tasas plasm6ticas de beta-endorfina, conforme se incrementaban las concentraciones de lactato en el plasma (n: 28, r: 0.84, p < 0.0005). Ello implica que la hip6xia tisular, como est6mulo "6nico y limitado en el tiempo", y con el establecimiento de una acidosis l6ctica inicial sin modificaciones intensas de las concentraciones de hidrogeniones (pH), es capaz de provocar una respuesta hipofisaria intensa de la secreci6n de ACTH y beta-endorfina.

Otro hecho constatado es que, cuando el est6mulo que provoca la secreci6n de ACTH y beta-endorfina se repite o mantiene temporalmente, la capacidad de respuesta del sistema de neurop6ptidos hipofisarios se va agotando, con un descenso de las concentraciones de estas sustancias en el plasma aunque manteniendo una proporcionalidad practicamente constante (MOJON, 1986; CARVAJAL, 1988) (Figura 9).

La idea de que la hipoxia de corta duraci6n o poca intensidad (capaz de elevar las concentraciones de lactacidemia sin llegar a producir una acidosis grave - pH < 7.20), act6e como un est6mulo 6nico y se produzca una respuesta neuroendocrina intensa con elevaciones plasm6ticas de ACTH y beta-endorfina (MOJON, 1987). Ahora bien, el establecimiento de una acidosis importante en el curso del parto, como aconteci6 en los reci6n nacidos analizados, implica una agres6n hip6xica intensa y/o de larga duraci6n. En estas circunstancias pudiera ocurrir, de forma aislada o concomitantemente: a) una depresi6n hipofisaria de ACTH y su familia de neurop6ptidos, observ6ndose una respuesta discordante entre el grado de estr6s y las tasas plasm6ticas determinadas; b) un trastorno en la nueva s6ntesis de neurop6ptidos hipofisarios o alteraci6n del eje hipot6lamo-hipofisario; c) o un desbalance entre producci6n y utilizaci6n perif6rica de ACTH y beta-endorfina, que podr6a estar aumentada; y, d) un "feedback" negativo por el aumento de hormonas corticoa-

DISCUSION

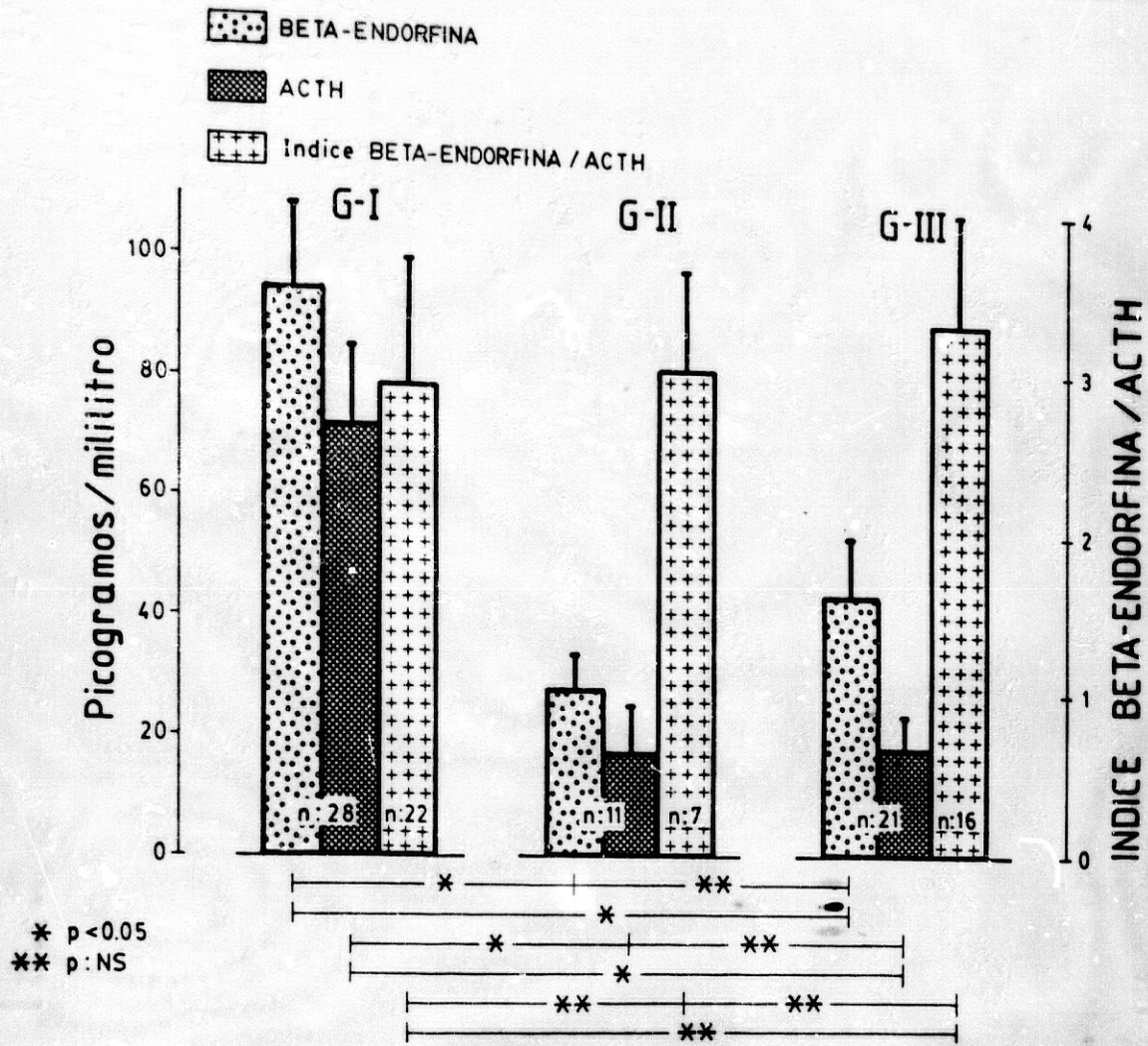


FIGURA 9.- Representación ráfica de las concentraciones de Beta-Endorfina y ACTH en plasma de recién nacidos normales (G-I), en el período neonatal precoz (G-II) y en un grupo de recién nacidos patológicos (G-III). Nótese que el índice Beta-Endorfina/ACTH es una constante biológica en situación de estrés del parto en el periodo de adaptación a la vida extrauterina y en diferentes situaciones fisiopatológicas (BAYES, 1989).

drenales sobre el factor liberado hipotalámico de la ACTH.

El grado de estrés fetal, intensidad más tiempo de duración de la hipoxia intraparto, reflejado por la hipercapnia, la acidosis y el estado de depresión vital neonatal, tanto al minuto como a los cinco minutos, determinan una limitación en la capacidad de síntesis y/o secreción y/o un aumento e incluso desigual utilización periférica de ACTH y beta-endorfina. Según se desprende de las bajas concentraciones determinadas en el cordón umbilical de los neonatos intensamente deprimidos.

CONCENTRACIONES DE BETA-ENDORFINA EN EL LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO DE NEONATOS AFECTOS DE UN SINDROME DE SUFRIMIENTO CEREBRAL AGUDO-SUBAGUDO

La actividad biológica de la beta-endorfina (beta- lipotropina 61-91) depende de su estructura química. La extracción de la tirosina del fragmento N-terminal resulta en una baja actividad opiácea, fundamentalmente de los receptores sensitivos a la naloxona (un potente antagonista de la morfina), mu y épsilon, y menor potencia analgésico. Aquellos fragmentos cortos de endorfina en el fragmento C-terminal como la alfa- endorfina (beta-lipotropina 61-76) o gamma-endorfina (beta- lipotropina 61-77) tienen escasa actividad opiácea (LING, 1977). La extracción de la tirosina N-terminal de la gamma-endorfina produce des-tyr-gamma-endorfina (HERSH, 1980), una secuencia peptídica sin actividad opiácea y con potentes efectos neurolépticos (KIRALY, 1981). La secreción y regulación de las cantidades de estas endorfinas y de sus des-tyr -derivados, en los mecanismos de inactivación de estas sustancias, tan solo

ADULFO SANCHEZ MARENCO

DISCUSION

han ido inicialmente examinadas. La significación biológica de los fragmentos de beta-endorfina, sus relaciones dinámicas con los depósitos de beta-endorfina, y su destino metabólico esperan solución (OWENS, 1987).

Hoy se admite la existencia de cinco receptores opiáceos: mu, delta, kappa, épsilon y sigma (GROSSMAN, 1983). Si cada receptor tiene su propio ligando característico, varios estudios (PATERSON, 1983; ZUKIN, 1981) abogarían por la asociación de endorfina con delta-receptores y dinorfina con kappa-receptores. No hay, aparentemente, ligando endógeno para mu-receptores. Por otra parte, estos subtipos de receptores pueden representar diferentes estados de un solo receptor, y se ha postulado que el receptor específico de beta-endorfina sería un "complejo" de mu y delta puntos de unión (LEE, 1982).

Aportaciones neurofisiológicas apoyan el concepto de estos receptores serían inhibitorios, estando localizados en las dendritas y perinucleares (inhibición postsináptica) o axones terminales (inhibición presináptica). En las escasas circunstancias en que los opiáceos pueden comportarse como excitantes, la mayoría de autores creen que pueda ser debido a una desinhibición interneuronal (HENDERSON, 1983).

Aunque los opiáceos endógenos y los receptores están ampliamente distribuidos por el sistema nervioso central, se han definido tres sistemas de localización que se podría denominar mayores: Sensorial, límbico y neuroendocrino; también por el sistema nervioso periférico: sistema simpático-parasimpático, pero sus funciones no están bien clarificadas (BURNARD, 1982; LA GAMMA, 1984). Los opiáceos endógenos y sus receptores se hallan en altas concentraciones en la médula de mamíferos, un área asociada con el centro del control respiratorio (BURNARD, 1982; CHERNICK, 1979; ORLOWSKI, 1982).

Hay muy pocas aportaciones acerca de los niveles de beta- endorfina en sangre de los recién nacidos (BAYES, 1985,1986; FACCHINET-

TESIS DOCTORAL 57

DISCUSION

TI, 1982; FLETCHER, 1980). Todavía no hay acuerdo unánime en si el sistema beta-endorfinérgico sigue un proceso madurativo paralelo a la madurez fetal (STARCK, 1981; BRUBAKER, 1982; FURUSAHBI, 1982; HINDMARSH, 1984; BAYES, 1986). En la actualidad se están estableciendo relaciones entre situaciones de estrés agudo y elevaciones en la actividad beta-endorfinérgica en el neonato (FLETCHER, 1980; BURNARD, 1982; FACCHINETTI, 1982, 1983; MOSS, 1982; SHAABAN, 1982; LAUNGANI, 1985). Probablemente la transición de la vida intra a la extrauterina sea una de las situaciones más alarmante que puedan acontecer durante la existencia del ser humano. Recientes estudios de la Clínica Universitaria de Pediatría de Granada, reafirman este concepto con la demostración de que la beta-endorfinemia determinada en el cordón umbilical, sigue una correlación lineal simple y directa con el grado de acidosis láctica (lactacidemia), aún en partos eutócicos, y sin evidencia clínica de sufrimiento fetal (BAYES, 1985, 1986; MOLINA, 1985), como ya han señalado algunos autores (GAUJRAY, 1977; WARDLAW, 1979) con otros marcadores biológicos de hipoxia intraparto. Varios estudios confirman que la beta-endorfina en cordón umbilical, y por tanto en el periodo neonatal inmediato, es independiente del tipo de parto y de las concentraciones maternas (GOLAND, 1981; SHAABAN, 1982; KOFINAS, 1985); y por otra parte, superadas las primeras 24 horas de vida postnatal los niveles plasmáticos del neuropéptido descienden a valores comparables a la de los adultos sanos (BAYES, 1985, 1986; FACCHINETTI, 1983; LOPEZ, 1983; MORALES, 1984).

La observación de los péptidos opiáceos pueden afectar el control respiratorio central (CHERNICK, 1981; CARREIRA-MONTEIRO, 1985) y actuar sobre receptores periféricos vagales (tipo J de PAINDAL) (COHEN, 1979; MOSS, 1981), su posible intervención en la patogenia de las apneas del recién nacido (CHERNICK, 1979; BURNARD, 1982; ORLOWSKI, 1982; MYER, 1987; SOUTHALL, 1987), o jugar algún papel en el mecanismo fisiopatológico de la muerte súbita del lactante (SIDS) o en su forma frustrada ("near-miss" SIDS), han generado

un enorme interés entre los clínicos (ANAS, 1984; BUILAND, 1981).

En la literatura especializada van apareciendo parcamente algunos artículos que tratan de niveles de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo, interpretando su origen, posibles funciones, catabolismo y "turnover", etc. (NAKAO, 1980; LEE, 1985); y aún son más escasas las aportaciones de estudios que midan directamente los niveles de beta-endorfinorraquia en neonatos (BURNARD, 1982; ORLOWSKI, 1982; LAUNGANI, 1985; MOJON, 1985). Otro aspecto del mayor interés es que se han detectado niveles elevados de beta-endorfinorraquia en lesiones graves del sistema nervioso central (encefalopatía desmielinizante subaguda), haciendo de este neuropéptido un potencial marcador de daño cerebral en el síndrome de sufrimiento cerebral agudo-subagudo del recién nacido (JIMENEZ, 1983). Es importante remarcar que las concentraciones de beta-endorfina medidas en líquido cefalorraquídeo obtenidas simultáneamente por punción lumbar o ventricular no muestran un gradiente craneocaudal significativo (FACCHINETTI, 1981). Cabe señalar, asimismo, que la mayoría de autores están de acuerdo en que no existe una correlación entre los niveles plasmáticos de beta-endorfina y las concentraciones en líquido cefalorraquídeo (JEFFCOATE, 1978; NAKAO, 1980; BAYES, 1986; DE RIU, 1989). BARNA y col. (BARNA, 1988) han demostrado que tras la implantación de una cánula en la cisterna magna en ratas induce elevaciones de las tasas plasmáticas y licuorales de beta-endorfina con un patrón diferente, sin correlación temporal, lo que abogaría por sistemas de regulación diferentes sobre el procesamiento de las células cerebrales y pituitarias de la pro-opiomelanocortina (POMP).

LIPMANN y col. (LIPMANN, 1988), estudiando las concentraciones de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo de primates afectados de aracnoiditis, provocadas por mielografía o cirugía espinal, han determinado una correlación negativa entre el grado de aracnoiditis y las concentraciones de beta-endorfina en líquido cefalorraquídeo obtenida por punción lumbar,

sugiriendo que los niveles de beta-endorfina en líquido cefalorraquídeo pueden ser utilizados para detectar alteraciones en los neurotransmisores en las inflamaciones meningeas.

Con estos antecedentes se proyectó este estudio de beta-endorfina en el L.C.R. obtenido en neonatos afectos de un síndrome de sufrimiento cerebral agudo-subagudo, estableciendo las posibles imbricaciones existentes entre los niveles del neuropéptido y aquellos factores que, según la bibliografía y las observaciones de la propia Clínica Universitaria de Pediatría de Granada, se han señalado como potencialmente relacionados con las concentraciones del neurotransmisor, tales como: edad gestacional, hipoxia intraparto, test de Apgar a los 5 minutos, días de vida postnatal y depresión respiratoria central, estableciendo comparaciones con la beta-endorfinorraquia citada en adultos y recién nacidos e interpretando su posible significado.

La beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo de los recién nacidos afectos de un "síndrome de sufrimiento cerebral agudo-subagudo" (JIMENEZ, 1983) está frecuentemente elevada respecto a la determinación realizada en adultos sanos, cuyo valor medio ha sido estimado en 39.5 ± 4.8 pg/ml y en 87.5 ± 9.0 pg/ml por LOPEZ y MORALES, respectivamente (LOPEZ, 1983; MORALES, 1984); o las citadas por varios autores en una amplia revisión realizada por FREDERICKSON y GEARY (FREDERICKSON, 1982), que oscilaron en un rango entre 5.3 y 155 pg/ml. También resultó más elevada que en recién nacidos normales, según datos de BURNARD y col. (BURNARD, 1982), cuyos valores los sitúa entre 28 y 39 pg/ml. Resultó, así mismo, más elevada que en neonatos afectos de un síndrome de sufrimiento fetal agudo, que BURNARD y col. (BURNARD, 1982), cuantifican en 109 ± 8.7 pg/ml en el primer día de la vida, y 137 ± 20.6 pg/ml después del tercer día de la vida postnatal. La depresión vital neonatal y el aumento de la inmunorreactividad beta-endorfinérgica del líquido cefalorraquídeo han sido informado por otros autores (TODD, 1986).

Estas elevadas concentraciones de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo de niños con sufrimiento cerebral agudo-subagudo podrían tener alguna significación pronóstica. YAO y col. (YAO, 1988) han establecido diferencias estadísticamente significativas en los niveles de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo entre un grupo de sujetos control (51.9 ± 5.6 pg/ml) y grupos de pacientes afectos de una agresión cerebral moderada (110.5 ± 14.5 pg/ml) o grave (173.8 ± 20.1 pg/ml). Esta opinión es compartida por otros autores (TONELLI, 1988).

LAUNGANI y col. (LAUNGANI, 1985), en neonatos con hipoxia intraparto (Apgar al minuto de vida entre 1 y 4 puntos), cifra unos valores de inmunoreactividad endorfinica de 148 pg/ml, con un rango entre 96 y 171 pg/ml, concentraciones inferiores halladas en el presente trabajo. Además, la beta-endorfinorraquia determinada en estos recién nacidos afectos de un "síndrome de sufrimiento cerebral", resultó más elevadas que las determinadas por ORLOWSKI (ORLOWSKI, 1982) en un grupo de lactantes de 2.18 ± 0.28 meses, que sufrían episodios de apnea grave-muerte súbita frustrada del lactante, con concentraciones de beta-endorfina licuoral de 59.62 ± 5.35 pg/ml.

MOSS y col. (MOSS, 1989), en un estudio en animales de laboratorio, han demostrado que las sustancias componentes del sistema de péptidos endorfinérgicos (beta-lipotropina y beta-endorfina) se elevan durante la hipoxia, tanto en plasma como en líquido cefalorraquídeo, con un especial tropismo hacia el tracto del núcleo solitario, relacionado con el centro respiratorio, y que en alguna medida puede explicar la respuesta depresora respiratoria en situación de hipoxia mantenida en el recién nacido.

Por tanto se puede concluir que la muestra de neonatos estudiados presentan una hiperreactividad del sistema beta-endorfinérgico, y que la misma se relaciona con el grado de estrés en el momento del parto y la capacidad de mantener movimientos respiratorios espontáneos. RADOSEVICH y col. (RADOSEVICH, 1989) han demostrado, en animales de experi-

DISCUSION

mentación, que los niveles de beta-endorfina, tanto en plasma como en líquido cefalorraquídeo, aumentan hasta un 50% de los valores basales durante el ejercicio en función del tiempo y la intensidad del mismo, y concluyen que el ejercicio es un regulador fisiológico de los sistemas neuroendocrinos centrales y periféricos. Este fenómeno podría explicar, por lo menos en parte, que los neonatos capaces de mantener movimientos ventilatorios espontáneos durante el ejercicio físico más importante del recién nacido sean los que muestran concentraciones licuorales de beta-endorfina más elevadas.

McMILLEN y col. (McMILLEN, 1986) han estudiado los efectos de la administración de beta-endorfina por vías endovenosa o directamente en el ventrículo lateral del feto de cordero y han observado las modificaciones de la respiración y de la actividad electrocortical. Aumentos de 2 a 230 veces las concentraciones basales de beta-endorfina influyeron escasamente sobre el ritmo respiratorio, aunque se observó una discreta bradipnea sin cambios en la actividad electrocortical. La infusión intracerebroventricular de beta-endorfina no produjo ningún cambio en los movimientos respiratorios, y concluyen que altas concentraciones de beta-endorfina en plasma o líquido cefalorraquídeo no suprimieron directa y totalmente los movimientos respiratorios.

Globalmente, a pesar de la complejidad y de las múltiples posibilidades de interacción entre péptidos (CHERNICK, 1981; MOSS, 1981; SANKARAN, 1984), transmisores más conocidos y aceptados como clásicos (KOPIN, 1974; OWENS, 1987; MILLINGTON, 1988), y drogas (CHERNICK, 1981-1982; CARREIRA-MONTEIRO, 1985; GOOLDIN, 1981), se hace cada vez más necesario valorar de nuevo los conceptos sobre la regulación neuronal de la respiración (FLOREZ, 1968-1977; WARLAW, 1979; COHEN, 1979; CHERNICK, 1981), e interpretar y añadir a los conceptos tradicionales (KATIWIN-KEL, 1977; STRANG, 1981; ANAS, 1984; KENNS, 1984; FANAROFF, 1985), estas aportaciones que surgen en el campo de los péptidos, como muy bien señala LA GAMMA (LA GAMMA, 1984).

TESIS DOCTORAL 60

En la muestra de neonatos estudiados las concentraciones de beta-endorfina en líquido cefalorraquídeo no se correlacionaron con los días de vida postnatal (el análisis de regresión discriminante paso a paso, permitió observar que no influenciaron significativamente las tasas licuorales de beta-endorfina), sin embargo MOSS y col. (MOSS, 1989) han informado que hay diferencias de las concentraciones de beta-endorfina plasmática, licuoral y en el tracto del núcleo solitario con los días de vida postnatal.

La hiperreactividad tónica de la endorfina puede causar una respuesta depresiva ventilatoria ante un estímulo respiratorio como el anhídrido carbónico o la hipoventilación (CHERNICK, 1978-1981-1982; BUILAND, 1981; GOODLIN, 1981; MOSS, 1981; BURNARD, 1982; CARREIRA-MONTEIRO, 1985; SCARDELLA, 1986). FREEDMAN y col. (FREEDMAN, 1988), sometiendo a animales de experimentación, no anestesiados, a una hipoxia moderada o severa, y controlando las tensiones parciales de gases sanguíneos y pH, la actividad beta-endorfinérgica medida 4 horas más tarde, en plasma y líquido cefalorraquídeo, no mostraron modificaciones significativas a los valores previos a la producción de hipoxia. Estos autores sugieren que la aparente capacidad de la hipoxia como causa de una elevación de neuropéptidos endorfinérgicos endógenos en el neonato puede representar un fenómeno más bien relacionado con el grado de madurez. Sin embargo, en la muestra de niños estudiados afectados de un "síndrome de sufrimiento cerebral agudo-subagudo" no se pudo establecer una relación directa de las tasas licuorales de beta-endorfina con la madurez que hubiera alcanzado el feto al nacer.

MYER y col. (MYER, 1987), han informado que los lactantes con episodios de apnea grave, en afectados de un síndrome de muerte súbita frustrada, en hermanos de víctimas de muerte súbita del lactante, tienen concentraciones de beta-endorfina en líquido cefalorraquídeo significativamente más elevadas que niños control (88 +/- 7 pg/ml versus 31 +/- 3 pg/ml), y han

ADULFO SANCHEZ MARENCO

DISCUSION

confirmado, asimismo, que no hay correlación entre las concentraciones del plasma con las líquidas, como ya han señalado otros autores (SANKARA, 1986).

A la luz de los resultados del presente estudio, cabe hacer una doble consideración: a) Aquellos neonatos que, en el contexto de un "síndrome de sufrimiento cerebral", mantienen una buena capacidad de regular espontáneamente los movimientos respiratorios, son los que habrían soportado una menor agresión hipóxica, al considerar el grado de acidosis (pH de arteria umbilical, que refleja el tiempo y/o intensidad de la hipoxia) y por tanto una menor agresión cerebral, que a su vez se manifiesta con una alta capacidad de respuesta a la situación de estrés, a juzgar por los altos niveles de beta-endorfinorraquia (TONELLI, 1988); b) Aquellos otros que tuvieron una acidosis más

intensa en el momento del parto y manifestaron una depresión respiratoria central, aún mostrando una hiperactividad tónica del sistema beta-endorfinérgico, tuvieron concentraciones del neurotransmisor en el líquido cefalorraquídeo más bajas. Si la beta-endorfina es un inhibidor que juega algún papel en esta depresión respiratoria, fenómeno que requerirá más estudios, podría deberse a un aumento de la sensibilidad al neuropéptido de los grupos neuronales que en el tronco cerebral componen el centro respiratorio (formando circuitos de "feed-back" cortos en relación con los diversos niveles del mecanismo que regula la fase inspiratoria central de la respiración), probablemente como consecuencia del daño hipóxico-isquémico en el momento del parto o en el contexto de otras agresiones cerebrales en el periodo neonatal (BRAND, 1977; CARREIRA-MONTEIRO, 1985).

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Primera:

Se confirma la existencia de una correlación lineal simple y directa de la beta-endorfina y la hormona adrenocorticotropa, indicando que su procesamiento y secreción adenohipofisarias, en situación de estrés o alarma, son concomitantes.

Segunda:

Los recién nacidos afectados de una depresión intraparto intensa, con acidosis láctica severa, muestran concentraciones plasmáticas de ACTH y beta-endorfina más bajas que los recién nacidos con un estrés normal del paso de la vida intrauterina a la extrauterina.

Tercera:

Las concentraciones plasmáticas de beta-endorfina (y hormona adrenocorticotropa) siguen una regresión de segundo grado, o función parabólica, con la lactoacidemia. Este hecho abre tres hipótesis de estudio: a) Que el estrés intenso y/o prolongado deplecione la adenohipofisis y, dada la corta vida media de los neuropéptidos analizados, bajen las concentraciones plasmáticas; b) Que la hipoxia severa lesione el eje hipotálamo-hipofisario y se altere profundamente la respuesta secretora adenohipofisaria; y, c) Que el estímulo hipóxico inicial promueva una secreción intensa de hormona adrenocorticotropa y beta-endorfina y, tras la acción corticotropa sobre las glándulas suprarrenales, se establezca un "feed-back" negativo sobre el eje hipotálamo-hipofisario.

Cuarta:

Los niveles de beta-endorfina en el líquido cefalorraquídeo de recién nacidos afectados de un síndrome de sufrimiento cerebral agudo-subagudo, fueron más elevados cuanto menor fue el grado de acidosis intraparto y cuando estos neonatos mostraron la capacidad de mantener movimientos respiratorios espontáneos. En este contexto clínico, los niveles de beta-endorfinorraquia pueden reflejar el grado de daño cerebral y tener valor pronóstico.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

ADAMS JE. Naloxone reversal of analgesia produced by brain stimulation in the human. *Pain*. 2: 161-166; 1976.

ADAMSON SL, PATRICK JE, CHALLIS IRG. Effects of naloxone on breathing, electrocortical, heart rate, glucose and cortisol responses to hypoxia in the sheep fetus. *J Dev Physiol*. 6: 485; 1984.

AHLQUIST RP. A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol*. 153: 580-600; 1948.

AKIL H, MAYER DJ, LIEBESKIND JC. Antagonism of stimulation-produced analgesia by naloxone: A narcotic antagonist. *Science*. 191: 961-962; 1962.

ALLEEM FA, ELTABBAKH GH, OMAR RA, SOUTHREM AL. Ovarian follicular fluid beta-endorphin levels in normal and polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol*. 156: 1197-1200; 1987.

ALLEM RG, PINTAR JE, STAK I, KENDALL JN. Biosynthesis and processing of pro-opiomelanocortin-derived peptides during fetal pituitary development. *Dev Biol*. 102: 43; 1985.

ALLOLIO B, WINKELLMANN W, HIPPE F, KAULEN D, MIES R. Effects of a met-enkephalin analogue on ACTH, growth hormone and prolactin in patients with ACTH hypersecretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 55: 1-7; 1982.

APGAR V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Curr Res Anaesth Anal*. 32: 260-267; 1953.

ARDUINI D, RIZZO G, DELL'ACQUA S, MANCOSO S, ROMANINI, C. Effect of naloxone on fetal behavior near term. *Am J Obstet Gynecol*.

ADULFO SANCHEZ MARENCO

156: 474-478; 1987.

ATWEH SF, KUHAR ME. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain: I. Spinal cord and lower medulla. *Brain Res*. 124: 53-67; 1977a.

ATWEH SF, KUHAR M J. Autoradiographic localization of opiate receptors in rat brain: II. The brain stem. *Brain Res*. 129: 1-12; 1977b.

AUSTIN BM, SMYTH DG, SNELL DR. Gamma-endorphin and met-enkephalin are formed extracellularly from lipotropin C-fragment. *Nature*. 269: 619-621; 1977.

AUTELITANO DJ, LOLAIT SJ, SMITH AI, FUNDER JW. Pregnancy associated changes in immunoreactive beta-Endorphin in rats. *J Endoc*. 108: 343-350; 1986.

BACIGALUPO G, LANGNER K, SCHMIDT S, SALING E. Plasma immunoreactive beta-endorphin, ACTH, and cortisol concentrations in mothers and their neonates immediately after delivery their relationship to the duration of labor. *J Perinat Med*. 15: 45-52; 1987.

BARCHAS JP, AKIL H, ELLIOT GR, et al. Behavioral neurochemistry: Neuroregulator and behavioral states. *Science*. 200: 964-973; 1978.

BARNA I, SWEEP CG, VELDHUIS HD, WIEGANT VM. Differential effects of cisterna magna cannulation on beta-endorphin levels in rat plasma and cerebrospinal fluid. *Acta Endocrinol*. 117: 517-524; 1988.

BAYES R, MOJON M^AJ, RUIZ E, MOLINA JA. Plasma beta-endorphin and adrenocorticotrophic hormone concentrations in normal newborns in response to perinatal stress.

TESIS DOCTORAL 65

BIBLIOGRAFIA

International Pediatrics. 3:263-266; 1988.

BELLUZY JD, STEIN L. Enkephalin may mediate euphoria and drive reward. *Nature*. 266: 556-568; 1977.

BELL JA, MARTIN WR. The effect of the narcotic antagonists naloxone, naltrexone and nalmefene on spinal cord C-fiber reflexes evoked by electrical stimulation or radiant heat. *Eur J Pharmacol*. 42: 147-154; 1977.

BERGER PA, BARCHAS JD. Pharmacologic studies of beta-endorphin in psychopathologic states. *Psych Clin North Am*. 6: 377-392; 1983.

BERGMANN F. The role of endogenous opioid peptides in physiological and pharmacological reward responses: a survey of present-day knowledge. *Isr J Med Sci*. 23: 8-11; 1987.

BERGSTROM L, LAGERCRANTZ H, TERENIUS L. Postmortem analysis of neuropeptides in brains from sudden infant death victims. *Brain Res*. 323: 279-285; 1984.

BIANCHI M, MARINI A, SACERDOTE P, COCO E, BRINI A, PANERAI A. Effect of chronic morphine on plasma and brain beta endorphin and methionine enkephalin in pregnant rats in their fetuses or newborn. *Neuroendocrinol*. 47: 89-94 (1988).

BLALOCK JE, SMITH E. Human leukocyte interferon: structural and biological relatedness to adrenocorticotrophic hormone and endorphins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 77: 5972-5974; 1980.

BLANK MS, PANERAI AE, FRIESEN HG. Opioid peptides modulate luteinizing hormone secretion during sexual maturation. *Science*. 203: 1129-1131; 1979.

BLANKSTEIN J, REYES J, WINTER JSD, FAIMAN C. Endorphins and the regulation of the human menstrual cycle. *Clin Endocrinol*. 14: 287-294; 1981.

BLOOM F, BATTEMBERG E, ROSSIER J, LING N, GUILLEMIN R. Neurons containing be-

ta-endorphin in rat brain exist separately from those enkephalin. *Immunocytochemical studies*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 75: 1591-1595; 1978.

BOTET F, NAVARRO C, MARTINEZ-OSABA MJ, PASTOR X, FIGUERAS J, JIMENEZ R. Plasmatic beta-endorphin in the neonatal withdrawal syndrome to heroin. In: Cosmi EV and Di Renzo GC (eds.): XI European Congress of Perinatal Medicine. Rome, Italy-April 10-13. ED. C/C. CIC. Edizione International. 53; 1988.

BRADBURY AF, SMYTH DG, SNELL CR, BIRDSALL NJM, HULME EC. C-fragment of lipotropin has a high affinity for brain opiate receptors. *Nature*. 260: 792-795; 1976.

BRANDT NJ, TERENIUS L, JACOBSEN BB, et al. Hyper-endorphin syndrome in a child with necrotizing encephalomyelopathy. *N Engl J Med*. 303: 914-916; 1980.

BRIDGENS NK. Beta-endorphin in fetal cord blood: correlation to maternal stress during parturition. *J Am Osteopath Assoc*. 82: 198-201; 1982.

BRIGHT GH, KAISER DL, ROGOLAD, CLARKE WL. Naloxone attenuates recovery from insulin induced hypoglycemia in normal men. *J Clin Endocrinol Metab*. 57: 213-216; 1983.

BRUBAKER PL, BAIRO AC, BENNETT HPI, BROWNE CA, SOLOMON S. Corticotrophic peptides in the human fetal pituitary. *Endocrinol*. 111: 1150-1155; 1982.

BRUNI JF, VAN VUGHT D, MARSHALL S, MEITES J. Effects of naloxone, morphine and methionine enkephalin on serum PRL, LH, FSH and GH. *Life Sci*. 21: 461-466; 1977.

BUCKINGHAM JC. Secretion of corticotrophin and its hypothalamic releasing factor in response to morphine and opioid peptides. *Neuroendocrinol*. 35: 111-116; 1982.

BUCHSBAUM MS, DAVIS GC, BUNNEY WE Jr. Naloxone alters pain perception and soma-

ADULFO SANCHEZ MARENCO

BIBLIOGRAFIA

tosensory evoked potentials in normal subjects. *Nature*. 270: 620-C22; 1977.

BURBACH JPH, LOEBER JG, VERHOEF J, KLOET ER. Beta-endorphin biotransformation in brain: formation of gamma-endorphin by a synaptosomal plasma membrane associated endopeptidase distinct from cathepsin. *Biochem Biophys Res Commun*. 92: 725-732; 1980a.

BURBACH JPH, LOEBER JC, VERHOEF J, WIEGANT VM, DE KLOETER, DE WIED D. Selective conversion of beta-endorphin into peptides related to gamma-and-alfa-endorphin. *Nature*. 283: 96-97; 1980b.

BYCK R. Peptide transmitter, a unifying hypothesis for euphoria, respiration, sleep and the action of lithium. *Lancet*. 2: 72-73; 1976.

CACCIARI E, CICOGNANI A, PIRAZOLI P, DALLACASA P, MAZZARACCHIO M A, TASSONI P, BERNARDI F, SALARDI S, ZAPULLA F. GH, ACTH, LH and FSH behavior in the first seven days of life. *Acta Paediatr Scand*. 65: 337-341; 1976.

CARVAJAL C, SERRANO M, CERVERA S. Estrés e inmunidad. *Ciencia Médica*. 1: 46-51; 1988.

CATLIN EA, CARPENTER MV, BRANN BS, MAYFIELD SR, SHAUL PW, GOLDSTEIN M, OH W. The Apgar score revisited: influence of gestational age. *J Pediatr*. 109: 865-868; 1986.

CEPEDA EE, LEE MI, MEHDIZADE H. Menor incidencia de hemorragia intraventricular en hijos de mujeres adictas a opiáceos. *Acta Paediatr Scand*. 4: 21-23; 1987.

CICERO TJ, SCHAIKER BA, MEYER ER. Endogenous opiates participate in the regulation of the hypothalamic pituitary luteinizing hormone axis and testosterone's negative feed-back control of luteinizing hormone. *Endocrinol*. 104: 1286-1291; 1979.

COHEN MR, PICKARD D, DUBOIS M. The role of the endogenous opioid system in the hu-

man stress response. *Psych Clin North Am*. 6: 457-471; 1983.

COLT EWD, WARDLAW SL, FRANTZ AG. The effect of running on plasma beta-endorphin. *Life Sci*. 28: 1637-1640; 1976.

COMB M, SEEBURG PH, ADELMAN J, EIDEN L, HERBERT E. Primary structure of the human met-and leu-enkephalin precursor and its mRNA. *Nature*. 295: 663-666; 1982.

CREESE I, SNYDER SH. Receptor binding and pharmacological activity of opiates in the guinea pig intestine. *J Pharmacol Exp Ther*. 194: 205-219; 1975.

CSONTOS K, RUST M, HOELLT V, et al. Elevated plasma beta-endorphin levels in pregnant women and their neonates. *Life Sci*. 25: 835-844; 1979.

CHAVEZ CJ, OSTTEA EM, STRYKER JC, et al. Sudden infant death syndrome among infants of drug-dependent mothers. *J Pediatr*. 95: 407-409; 1979.

CHERNICK V, MADANSKY DL, LAWSON E. Naloxone decreases the duration of primary apnea with neonatal asphyxia. *Pediatr Res*. 14: 357-359; 1980.

CHERNICK V, CRAIG RJ. Naloxone reverses neonatal depression caused by fetal asphyxia. *Science*. 216: 1252-1253; 1982.

DAVIDSON S, GIL-AD I, ROGOVIN H, LARON Z, REISNER SH. Cardiorespiratory depression and plasma beta-endorphin levels in low-birth-weight infants during the first day of life. *Am J Dis Child*. 141: 145-148; 1987.

DE RIU PL, PETRUZZI V, PALMIERI G, GENTILI C, MELIS F, CARIA MA, AZZENA GB, CASU AR, MARRAS G, MADEDDU G. Beta-endorphin in experimental canine spinal ischemia. *Stroke* 20:252-258; 1989.

DE SOUZA S W, JOHN R W, RICHARDS J B, MILNER R D. Fetal distress birth scores in new-

ADULFO SANCHEZ MARENCO

TESIS DOCTORAL 67

BIBLIOGRAFIA

born infant. *Arch Dis Child*. 50: 920-926; 1975.

DEMURA R, ODAGIRI E, YOSHIMURA M, JIBIKI K, ADACHI T, SHIROTA M, SHIZKIME K, DEMURA H, OOUCHI H. Placental secretion of prolactin, ACTH and immunoreactive beta-endorphin during pregnancy. *Acta Endocrinol*. 100: 114-119; 1982.

DENT RR, GUILLEMINAULT G, ALBERT LH. Diurnal rhythm of plasma immunoreactive beta-endorphin and its relationship to sleep stages and plasma rhythms of cortisol and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab*. 52: 942-947; 1981.

DETRICK J, PEARSON J, FREDERICKSON R. Endorphin and parturition. *Obstet Gynecol*. 65: 647-651; 1985.

DIRKSEN R, OTTEN MH, WOOD GJ, VERBAAN CJ, HAALEBOS MM, VERBOLLW PV, NIJHUIS GM. Naloxone in shock. *Lancet*, 2: 1360-1361; 1980a.

DIRKSEN R, NIJHUIS GMM. Epidural opiate and perioperative analgesia. *Acta Anaesthesiol Scand*. 24: 367-374; 1980b.

DIRKSEN R, WOOD GJ, NIJHUIS GMM. Mechanism of naloxone therapy in the treatment of shock: a hypothesis. *Lancet*. 1: 607; 1981.

DIVERS W, STEWART R, WILKES M, YEN M. Amniotic fluid beta-endorphin and alpha-melanocyte-stimulating hormone immunoreactivity in normal and complicated pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 144: 539-542; 1982.

DOCKRAY GJ. The biosynthesis of regulatory peptides. *Am Rev Respir Dis*. 136: s9-s15; 1987.

DOMENECH E, MOYA M. Actitudes éticas en relación con la asistencia neonatal. *An Esp Pediatr*. 22: 114-118; 1985.

DUBOIS P, VARGUES-REGAIRAZ F, DUBOIS MP. Human fetal anterior pituitary immunofluorescent evidence for corticotrophin and melanotrophin activities. *Zell Fors Chung*. 45: 131; 1973.

TESIS DOCTORAL 68

DUBOWITZ LMS, DUBOWITZ V, GOLDBERG C. Clinical assessment gestational age in newborn infant. *J Pediatr*. 77: 1-10; 1970.

EVANS PJ, DIEGUEZ C, REES LH, HALL R, SCANLON MF. The effect of cholinergic blockade on the ACTH, beta-Endorphin and cortisol responses to insulin-induced hypoglycemia. *Clin Endocrinol*. 24: 687-691; 1986.

EVANS MI, FISHER A, RUBICHAUX A, STANTON R, RODBARD D, LARSEN J, MUKHERJEE AB. Plasma and red blood cell beta-endorphin immunoreactivity in normal and complicated pregnancies: Gestational age variation. *Am J Obstet Gynecol* 151: 433-437; 1985.

FACCHINETTI F, LANZANI A, FURANI S, GENAZZANI AR. Qualitative observations on the fetal beta-endorphin response at birth. In: Cosmi EV and Di Renzo GC (eds.): XI European Congress of Perinatal Medicine. Rome, Italy-April 10-13. ED. C/C. CIC. Edizione Internazionale. 53; 1988.

FACCHINETTI F, STORCHI AR, PETRAGLIA F, GARUTI G, GENAZZANI AR. Ontogeny of pituitary beta-endorphin and related peptides in the human embryo and fetus. *Am J Obstet Gynecol*. 156: 735-739; 1987.

FACCHINETTI F, BAGNOLI F, BRACCI R, GENAZZANI AR. Plasma opioids in the first hours of life. *Pediatr Res*. 16: 95-98; 1982.

FACCHINETTI F, BAGNOLI F, PETRAGLIA F, PARRINI D, SARDELLI S, GENAZZANI AR. Feto-maternal opioid levels and parturition. *Obstet Gynecol*. 62: 764-768; 1983.

FACCHINETTI F, PETRAGLIA F, CICERO S, NAPPI G, VALENTINI M, GENAZZANI AR. No gradient exists between lumbar and ventricular cerebrospinal fluid beta-endorphin. *Neurosci Lett*. 77: 349-352; 1987.

FADEN AI, JACOBS TP, HOLADAY JW. Opiate antagonist improves neurologic recovery after spinal injury. *Science*. 211: 493-495; 1981.

ADULFO SANCHEZ MARENCO

- FADEN AI, HULADAY JW. Antagonists: A role in the treatment of hypovolemic shock. *Science*. 205: 317-318; 1979.
- FELBER JP. Radioimmunoassay in the clinical chemistry laboratory. *Adv Clin Chem*. 20: 129; 1980.
- FELDMAN M, KISER RS, UNGER RH, LI CH. Beta-endorphin and the endocrine pancreas. *New Engl J Med*. 308: 349-353; 1983.
- FINNEGAN JP, REESER DS. The incidence of sudden death in infant born to women maintained on metadone. *Pediatr Res*. 12: 405; 1978.
- FISCHLI W, GOLDSTEIN A, HUNKAPILLER MW, HOOD LE. Isolation and aminoacid sequence of a 4.000-dalton dynorphin from porcine pituitary. *Proc Natl Acad Sci USA*. 79: 5435-5437; 1982.
- FLETCHER J, THOMAS T. beta-endorphin and parturition. *The Lancet*. 9: 310; 1980.
- FLOREZ J, MEDIAVILLA A, PAZOS A. Respiratory effects of beta-endorphin D-ala²-met-enkephalinamide and met-enkephalin injected into the lateral ventricle and the pontomedullary subarachnoidal space. *Brain Res*. 199: 197-206; 1980.
- FOLEY KM, et al. Beta-EP analgesia and hormonal effects in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*. 78: 5377-5381; 1979.
- FOOTE RW, MAURER R. Autoradiographic localization of opiate kappa-receptors in the guinea pig brain. *Eur J Pharmacol*. 85: 59-103; 1982.
- FREDERICKSON RCA, BURGIS V, EDWARDS JD. Hyperalgesia involved by naloxone follows diurnal rhythmun responsivity to painful stimuli. *Science*. 198: 756-758; 1977.
- FREEDMAN A, SCARDELA AT, EDELMAN NH, SANTIAGO TV. Hypoxia does not increase CSF or plasma beta-endorphin activity. *J Appl Physiol*. 64: 966-971; 1988.
- FRENK H, URCA G, LIEBESKIND JC. Epileptic properties of leucine and methionine-enkephalin: Comparison with morphine and reversibility by naloxone. *Brain Res*. 147: 327-337; 1978.
- FURMAN WL, NENKE JA, BARSON WJ. Continuous naloxone infusion in two neonates with septic shock. *J Pediatr*. 105: 649-651; 1984.
- FURUHASHI N, TAKAHASHI T, FUKAYA T, SHINKAWA O, TAKAHASHI T, TANAKA M, KÖHNÖ H. Human beta-endorphin and beta-lipotrophin levels in maternal and fetal plasma and amniotic fluid. *Tohoku J Exp Med*. 149: 89-93; 1986.
- FURUHASHI N, TAKAHASHI T, KOHNO H, SHINKAWA O, TACHIBANA Y, SUZUKI M. Plasma adrenocorticotrophic hormone, beta-lipotrophin and beta-endorphin in the human fetus at delivery. Correlation with birth weight and placental weight. *Gynecol Obstet Invest*. 14: 236-240; 1982.
- GABRIEL SM, SIMPKINS JW, KALRA SP. Modulation of endogenous opioid influence on LH secretion by progesterone and estrogen. *Endocrinol*. 113: 1806-1811; 1983.
- GAILARD RC, GROSSMAN A, SMITH R, REES R, BASSER GM. The effects of a met-enkephalin analogue on ACTH, beta-LPH, beta-endorphin and met-enkephalin in patients with adrenocortical disease. *Clin Endocrinol*. 14: 471-476; 1981.
- GAUTRAY JP, JOLIVET A, VIELH JP, GUILLEMIN R. Presence of immunoassayable beta-endorphin in human amniotic fluid: Elevation in cases of fetal distress. *Am J Obstet Gynecol*. 15: 211-212; 1977.
- GAYTON RJ, LAMBERT LA, BRADLEY PB. Failure of (+)-naloxone to antagonize responses to opioid peptides. *Neuropharmacology*. 17: 549-551; 1978.

BIBLIOGRAFIA

- GENAZZANI AR, FACCHINETTI F, PARRINI D. beta-lipotrophin and beta-Endorphin plasma levels during pregnancy. *Clin Endocrinol.* 14: 409-418; 1981.
- GENAZZANI AR, PETRAGLIA F, PARRINI D, NASI A, ANGIONI G, FACCHINETTI F, FACCHINETTI V, VOLPE A. Lack of correlation between amniotic fluid and maternal plasma contents of beta- endorphin, beta-lipotrophin, and adrenocorticotrophic hormone in normal and pathologic pregnancies. *Am J Obst Gynecol.* 148: 198-203; 1984.
- GENAZZANI AR, LANZANI AR, STORCHI AR, FACCHINETTI F. The role of oploids in the perinatal period. In: Cosmi EV and Di Renzo GC (eds.): XI European Congress of Perinatal Medicine. Rome, Italy- April 10-13. ED. C/C. CIC. Edizione Internationali. 53; 1988.
- GIBBS DM, STEWART RD, LIV JH, VALE W, RIVIER J, YEN S C. Effects of synthetic corticotrophin-releasing factor and dopamine on the release of immunoreactive beta-endorphin, beta-lipotrophin and alfa-melanocyte-stimulating hormone from human fetal pituitaries in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 55: 1149-1152; 1982.
- GILMAN SC, SCHWARTZ JN, MILNER RJ, BLOOM FE, FEDLMAN JD. beta- Endorphin enhances lymphocyte proliferative responses. *Proc Natl Acad Sci USA.* 79: 4262-423; 1982.
- GINTZLER AR. Endorphin mediated increased in pain treshold during pregnancy. *Science.* 210: 193; 1980.
- GIUFFRE K, UDELSMAN R, LISTWAK S, CHROUSOS G. Effects of immune neutralization of corticotropin releasing hormone, adrenocorticotropin and beta-endorphin in the surgically stressed rat. *Endocrinology.* 122: 306-310; 1988.
- GOLAND R, WARDLAW S, STARK R, FRANTZ A. Human plasma beta- endorphin during pregnancy, labor and delivery. *J Clin Endocrinol Metab.* 52: 74-78; 1981.
- GOLD MS, REH WS. The role of endorphins in opiate addiction, withdrawal, and recovery. *Psychiatric clinics of North America.* 6: 489-520; 1983.
- GOLDENBERG RL, HUDDLESTON JF, NELSON KG. Apgar scores and umbilical arterial pH in preterm newborn infants. *Am J Obstet Gynecol.* 149: 651-654; 1984.
- GONZALEZ F, NAVARRETE L, BUENO M, GILBERT M, CLAVERO PA, SABATELL RM. Consideration technic about the lactate dosage and mother-foetus changes in normal labor. 11th World Congress of Gynecology and Obstetrics. Berlin. Septiembre, 1985. Acts.
- GOODLIN RC. Naloxone and its possible relationship to fetal endorphin levels and fetal distress. *Am J Obst Gynecol.* 139: 16- 19; 1981.
- GOODMAN M, MEINENHOFIR J (eds.). Peptides-proceedings of fifth American peptide symposium New York. Ed. John Elle & Sons. 96-99; 1977.
- GOODMAN RR, SNYDER SH, KUJAR MJ, SCOTT YW. Differentiation of delta and mu receptor localizations by light microscopic autoradiography. *Proc Natl Acad Sci USA.* 77: 6239-6243; 1980.
- GRAF L, KENESSEY A, PATTHY A, GRYNBAUM A, MARKS N, LAJTHA A. Cathepsin D generates gamma-endorphin from beta-endorphin. *Arch Biochem Biophys.* 193: 101-109; 1979.
- GRAMSH C, HOLLT V, MERHRAEIN P. Regional distribution of methionina-enkephalin and beta-endorphin-like immunoreactivity in human brain and pituitary. *Brain Res.* 171: 261-270; 1979.
- GREVERT P, GOLDSTEIN A. Endorphin: Naloxone fails to alter experimental pain or mood in humans. *Science.* 199: 1093-1095; 1978.
- GROSSMAN A, BESSER GJM, MILLES JJ, BAYLIS PH. Inhibition of vasopressin release in

ADULFO SANCHEZ MARENCO

TESIS DOCTORAL 70

BIBLIOGRAFIA

man by opiate peptide. *Lancet*. II: 1108-1110; 1980.

GROSSMAN A, REES LH. The neuroendocrinology of opioids peptides. *Br Med Bull*. 39: 83-88; 1983.

GROSSMAN A, STUBBS WA, GAILLARD RC, DELITALA G, REES LH, BESSER GM. Studies on the opiate control of PRL, GH, and TSH. *Clin Endocrinol*. 14: 381-386; 1981.

GUBLER V, SELBURG P, HOFFMAN B, GABE LP, UDENFRIEND S. Molecular cloning establishes pro-enkephalin-containing peptides. *Nature*. 295: 206-208; 1982.

GUILLEMIN R, BRAZEAU P, BOEHLEN P, ESCH F, LING N, WEHRENBURG W. Growth hormone releasing factor from a human pancreatic tumor that caused acromegaly. *Science*. 218: 585-587; 1983.

GUILLEMIN R, VARGO T, ROSSIER J, MINICH S, LING N, RIVIER C, VALE W, BLOOM F. Beta-endorphin and adrenocorticotrophin are secreted concomitantly by the pituitary gland. *Science*. 197: 1367-1369; 1977.

HAIER RJ, QUAID K, MILLS JSC. Naloxone alters pain perception after jogging. *Psych Res*. 5: 231; 1981.

HALE AC, BESSER GM, REES LH. Characterization of pro-opiomelanocortin-derived peptides in pituitary and ectopic adrenocorticotrophin-secreting tumours. *J Endocrinol*. 108: 49-56; 1986.

HERSH LB, SMITH TE, MCKELVY JF. Cleavage of endorphins to des-tyr-endorphins by homogeneous bovine brain aminopeptidase. *Nature*. 286: 160-162; 1980.

HILLER JM, ANGEL LM, SIMON EJ. Multiple opiate receptors: Alcohol selectively inhibits binding to delta receptors. *Science*. 214: 468-469; 1981.

HINDMARSH KW, SANKARAN K, WATSON V.

ADULFO SANCHEZ MARENCO

Human beta-endorphin level determination. *The Journal of Pediatrics*. 5: 833-834; 1983.

HINDMARSH KW, SANKARAN K, WATSON VG. Plasma beta-endorphin concentrations in neonates associated with acute stress. *Dev Pharmacol Ther*. 7: 198-204; 1984.

HINDMARSH K, SANKARAN K. Endorphin and the neonate. *Can Med Assoc J*. 132: 331-334; 1985.

HOLADAY JW, FADEN AI. Naloxone reversal of endotoxin hypotension suggests role of endorphins in shock. *Nature*. 275: 450-451; 1978.

HUGHES J. Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine. *Brain Res*. 88: 295-308; 1975a.

HUGHES J, SMITH JW, KOSTERLITZ HW, et al. Identification of two related penta-peptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature*. 258: 577-579; 1975b.

INY LJ, GIANOULAKIS C, PALMOUR R, MEANEY M. The beta-endorphin response to stress during postnatal development in the rat. *Dev Brain Res*. 31: 177-181; 1987.

IPP E, DOBBS R, HUNGER H. Morphine and beta-endorphin influence the secretion of the endocrine pancreas. *Nature*. 276: 190-191; 1978.

JANOWSKY DS, JUDD LL, HUEY LY, RISCH JC, SEGAL DS. Behavioral effects of opiate receptor antagonists in psychopathologic states. *Psychiatric Clinics of North America*. 6: 403-404; 1983.

JEFFCOATE WJ, REES LH, McLOUGHLIN L. beta-endorphin in human cerebrospinal fluid. *Lancet*. 2: 119-121; 1978.

JONES DJ, CONTRACTOR SF. Term and pre-term umbilical artery levels of beta-endorphin and ACTH and their significance in the development of respiratory distress syndrome. *J Obstet*

TESIS DOCTORAL 71

BIBLIOGRAFIA

Gyneol. 6: 102-105; 1985.

JUDD LL, RISCH SC, SEGAL DS, JANOWSKY DS, HUEY LY. Behavioral and neuroendocrine effects of opioid receptor agonists in psychopathologic states. *Psych Clin North Am.* 6: 393-402; 1983.

JUDD AM, HEDGE GA. The roles of opioid peptides in controlling thyroid stimulating hormone release. *Life Sci.* 31: 2529-2536; 1982.

KAKADANI H, FURUTANI Y, TAKAHASHI H, et al. Cloning and sequence analysis of DNA for porcine alfa-neo-endorphin/dynorphin precursor. *Nature.* 298: 245-249; 1982.

KERR FWL. Neuroanatomical substrates of nociception in the spinal cord. *Pain.* 1: 325-326; 1975.

KIMBALL CD, CHANG CM, CHAPMAN MB. Endogenous opioid peptides in intrapartum uterine blood. *Am J Obstet Gynecol.* 149: 79-82; 1984.

KIMBALL CD, CHANG CM, HUANG SM, HOUCK JC. Immunoreactive endorphin peptides and prolactin in umbilical vein and maternal blood. *Am J Obstet Gynecol.* 140: 157-164; 1981.

KIRALY I, TAPPER M, BORSY J, GRAF L. Further evidence for the neuroleptic-like activity of gamma-endorphin. *Peptides (Fayetteville).* 2: 9-12; 1981.

KNUDTZON J. Hypoinsulinemic and hyperglycemic effects of beta-endorphin in rabbits. *Horm Metab Res.* 18: 505-509; 1986.

KOFINAS GD, KOFINAS AD, TAVAKOLI FM. Maternal and fetal beta-endorphin release in response to the stress of labor and uelivery. *Am J Obstet Gynecol.* 152: 56-59; 1985.

KOFINAS GD, KOFINAS AD, PYRGEROU M, REYES F. Amniotic fluid beta-endorphin levels and labor. *Obstet Gynecol.* 69: 945-947; 1987.

KOBB GF, BLOOM FE. Behavioral effects of opioid peptides. *Br Med Bull.* 39: 89-94; 1983.

KOSTER HW, LORD JAH, PATERSON SJ, MATERFIELD AA. Effects of changes in the structure of enkephalins and narcotic analgesia drugs on their interaction with "mu" and "delta" receptors. *Br J Pharmacol.* 68: 333-342; 1980.

KRIEGUER DT, LIOTTA AS, SUDA T, GOOD-GOLD A, CONDON E. Human plasma immunoreactive lipotropin and adrenocorticotropin in normal subjects and in patients with pituitary-adrenal disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 48: 566-571; 1979.

KUICH TE, ZIMMERMAN D. Could endorphins be implicated in sudden-Infant-death syndrome. *N Engl J Med.* 304: 973; 1981.

KUICH TE, FRANCIOSI RA. A study of the endogenous opioid system in the sudden infant death syndrome. *Med Hypothesis.* 10: 365-384; 1983.

LACOUMENTA S, YEO TH, BURRIN JM, HALL GM. Beta-endorphin infusion fails to modulate the hormonal and metabolic response to surgery. *Clin Endocrinol.* 26: 657-666; 1987.

LAGAMMA EF, ITSKOVITZ J, RUDOLPH AM. Maturation of circulatory responses to methionine-enkephalin. *Pediat Res.* 17: 162-167; 1983.

LANGLEY JN. On the physiology of the salivary secretion. *J Physiolol.* 1: 339; 1978.

LAUBIE M, SCHMITT M, DROVILLAT H. Central sites and mechanisms of the hypotensive and bradycardic effects of the narcotic analgesia agent fentanyl. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 296: 255-261; 1979.

LAUNGANI SG, DELIVORIA B, GINTZLER A, WONG S, GLASS L. Apgar scores and cerebrospinal fluid beta-endorphinlike immunoreactivity during the first day of life. *Am J Dis Child.* 139: 403-404; 1985.

LEMAIRE I, TSENG R, LEMAIRES S. Systemic

TESIS DOCTORAL 72

ADULFO SANCHEZ MARENCO

administration of beta-endorphin: Potent hypotensive effect involving a serotonergic pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*. 75: 6240-6242; 1978.

LENG G, MANSFIELD S, BICKNELL R, BROWN D, CHAPMAN C, HULLINGSWORTH S, INGRAM C, MARSH M, YATES J, DYER R. Stress induced disruption of parturition in the rat may be mediated by endogenous opioids. *J Endocr*. 114: 247-252; 1987.

LEVINE JD, GORDON N, FIELDS HL. The mechanisms of placebo analgesia. *Lancet*. 2: 654-657; 1978.

LEWIS AB, FERRY DA, SADEGHI M. Fetal cardiovascular and breathing movement responses to endogenous opiates. *Biol Neonate*. 50: 278-287; 1986.

LI CH, CHUNG D. Isolation and structure of an untrikontapeptide with opiate activity from camel pituitary glands. *Proc Natl Acad Sci USA*. 73: 1145-1149; 1976.

LI CH. A new active peptide from pituitary gland. 201: 924; 1964.

LI CH, BARNAFI L, CRETEN M, CHUNG D. Isolation and amino acid sequence of beta-LPH from sheep pituitary glands. *Nature*. 208: 1093-1094; 1965.

LING N, MINICK S, LAZARUS L, RIVIER J, GUILLEMIN R. Structure-activity relationships of enkephalin and endorphin analogs. In: Ling N and Guillemin R (eds.): *Morphinomimetic activity of synthetic fragments of beta-lipotropin and analogs*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 73: 3308-3310; 1976.

LIOTTA AS, OSATHANOND HR, RYAN K J, et al. Presence of corticotropin in human placenta: demonstration of *in vitro* synthesis. *Endocrinol*. 101: 1552-1558; 1977.

LIOTTA AS, HOUGHTEN R, KRIEGER DT. Identification of beta-endorphin-like peptide in cultured human placental cells. *Nature*. 295: 593-595; 1982.

ADULFO SANCHEZ MARENCO

LIPMAN BT, HAUGHTON VM. Diminished cerebrospinal fluid beta-endorphin concentration in monkeys with arachnoiditis. *Invest Radiol*. 23: 190-192; 1988.

LORD JA, WATERFIELD AA, HUDHES J, KOSTERLITZ HW. Endogenous opioid peptides: multiple agonists and receptors. *Nature*. 267: 495-499; 1977.

MACDONALD MG, MOSS IR, KEFALE GG, GINZBURG HM, FINK RJ, CHIN L. Effects of naloxone on apnea of prematurity and on plasma beta-endorphin-like immunoreactivity. *Dev Pharmacol Ther*. 9: 301-309; 1986.

MACHOVA J, KVALTINOVA Z. The actions of Leu-enkephalin and morphine in cat sympathetic ganglion. *Eur J Pharmacol*. 87: 277-282; 1983.

MAINS RE, EIPPER BA, LING N. Common precursor to corticotropins and endorphins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 74: 3014-3018; 1977.

MALCOLM DS, HOLIDAY JW. Opioid peptides and their antagonists: a role in respiratory function. *Sem Respir Med*. 7: 81-87; 1985.

MARTIN JB, AUDET J, SAUDERS A. Effects of somatostatin and hypothalamic ventromedial lesion on GH release induced by morphine. *Endocrinol*. 96: 839-847; 1975.

MARTIN WR, EADES CG, THOMPSON JA, HUPPLER RE, GILBERT PE. The effects on morphine and nalorphine-like drugs in the non-dependent and morphine-dependent chronic spinal dog. *J Pharmacol Exp Ther*. 197: 517-532; 1976.

MARTIN JB, TOLIS G, WOODS I, GUIDA H. Failure of naloxone to influence physiological GH and PRL secretion. *Brain Res*. 168: 210-215; 1979.

MARTIN R, VOIGT IH. Enkephalins co-exist with oxytocin and vasopressin in nerve terminals of rat neurohypophysis. *Nature*. 289: 502-503; 1981.

TESIS DOCTORAL 73

BIBLIOGRAFIA

- MAYER G, WESSEL J, KOEBBERLING J. Failure of naloxone to alter exercise induced growth hormone and prolactin release in men. *Clin Endocrinol.* 13: 413-416; 1980.
- MAYERL DJ, PRICE DD, RAFI IA. Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxone. *Brain Res.* 121: 368; 1377.
- McLOUGHLIN L, LWRY P J, RATTER S, BESER G M, REES L. Beta- endorphin and beta-MSH in human plasma. *Clin Endocrinol.* 12: 287-292; 1980.
- McMILLEN IC, WALKER DW. Effect of beta-endorphin on fetal breathing movements in sheep. *J Appl Physiol.* 61: 1005-1011; 1986.
- MILLINGTON WR, DYBDAL M., DAWSON R Jr, MANZINI C, MUELLER GP. Equine Cushing's disease: differential regulation of beta-endorphin processing in tumors of the intermediate pituitary. *Endocrinology.* 122: 1598-1604; 1988.
- MOJON MJ, BAYES R. Respuesta hipofisaria ante diferentes tipos de estrés en el periodo perinatal: valoración del índice beta- endorfina/ACTH plasmático. En: Molina JA, Galdó G, Bayés R y Narbona E. II Jornadas de Neonatología. Granada. Ed. Centro de Documentación de J Uriach. 1986
- MOJON MJ, BAYES R, RUIZ E. Sistema beta-endorfinérgico en el síndrome de adaptación del neonato sano y enfermo. *Laboratorio,* 83: 99-114; 1987.
- MORALES A. Beta-endorfina y enfermedades del sistema nervioso central: niveles y correlación en plasma y líquido cefalorraquídeo. Tesis doctoral. Universidad de Granada. 1984.
- MORLEY JE, BARANETZKY G, WINGERT TD, CARLSON HE, HERSHMAN JM, MELMED S, LEVIN SR, JAMISON KR, WEITZMAN R, CHANG RJ, VARNER A A. Endocrine effects of naloxone induced opiate receptor blockade. *J Clin Endocrinol Metab.* 50: 251-257; 1980.
- MOSS IR, FRIEDMAN E. beta-endorphi: effects on respiratory regulation. *Life Sci.* 23: 1271-1276; 1978.
- MOSS IR, SCARPELLI EM. beta-endorphin central depression of respiration and circulation. *J Appl Physiol.* 50: 1011-1016; 1981.
- MOSS IR, CONNER H, YEE WF, IORIO P, SCARPELLI EM. Human beta- endorphin-like immunoreactivity in the perinatal/neonatal period. *J Pediatr.* 101: 443-446; 1982.
- MOSS I, SCARPELLI EM. Human beta-endorphin level determination. *J Pediatr,* 5: 834; 1983.
- MOSS IR, SUGARMAN LM, GOODE DL. Endogenous opioid effect on breathing during normoxia and hypoxia in developing swine. *Biol Neonate.* 52: 337-346; 1987.
- MOSS IR, INMAN SJ. Proopiomelanocortin opioids in brain, CSF, and plasma of piglets during hypoxia. *J Appl Physiol.* 66: 2280-2286; 1989.
- MOSS IR, INMAN SJ, SLAUGHTER CA. Posttranslational processing of opioid pro-opiomelanocortin products in piglets. *Am J Physiol.* 256: R429-434; 1989.
- MULLEN PE, JEFFCOATE WJ, LINSELL C. The circadian variation of immunoreactive lipotropin and its relationship to ACTH and growth hormone in man. *Clin Endocrinol.* 5: 533-539; 1979.
- MYER EC, DEWEY W, COLBERT B. Endogenous opioids a possible marker for infants at risk for sudden infant death (SIDS). *Pediatr Res.* 19: 383; 1985.
- MYER EC, MORRIS DL, ADAMS ML, BRASE DA, DEWEY WL. Increased cerebrospinal fluid beta-endorphin immunoreactivity in infants with apnea and siblings of victims of sudden infant death syndrome. *J Pediatr.* 111: 660-666; 1987.

ADULFO SANCHEZ MARENCO

BIBLIOGRAFIA

- NABER D, PICKARD D. The measurement of endorphins in body fluids. *Psych Clin North Am.* 6: 443-456; 1983.
- NAKANISHI S, INQUE A, KITA T. Nucleotide sequence of cloned cDNA for bovine corticotrophin-beta-lipotropin precursor. *Nature.* 278: 423-427; 1979.
- NAKAO K, NAKAI Y, OKI S, HORRIL K, IMURA H. A concomitant release of beta-Endorphin with adrenocorticotropin after metyrapone administration. *J Clin Invest.* 62: 1395-1398; 1978.
- NAKAO K, OKI S, TANAKA I. Immunoreactive beta-endorphin and adrenocorticotropin in human cerebrospinal fluid. *J Clin Invest.* 66: 1390-1393; 1980.
- NEWNHAM IP. Endogenous opioid peptides in pregnancy. *Br J Obstet Gynecol.* 90: 535-538; 1983.
- NICHOLSON JF, WAGNER BM. El laboratorio en la práctica pediátrica. *Pediatr Clin N Am (ed esp).* 4: 809-830; 1980.
- NOLIA M, FURUTANI Y, TAKAHASHI H. Cloning and sequence analysis of cDNA for bovine adrenal preproenkephalin. *Nature.* 295: 202-206; 1982.
- NUMA S, NAKANISHI S. Corticotrophin-beta-endorphin precursor- A multi-hormone precursor in its gene. *Trends Biochem Sci.* 6: 272-277; 1981.
- ORLOWSKY JP, LONSDALE D, DENKO CW. beta-endorphin levels in infant apnea-syndrome: a preliminary communication. *Clev Clin Q.* 49: 87-92; 1982a.
- ORLOWSKY JP, HERPELL DW, MOODIE DS. Narcotic antagonist therapy of the obesity hypoventilation syndrome. *Crit Care Med.* 10: 604-607; 1982b.
- ORLOWSKI JP. Endorpinas en el líquido cefalorraquídeo y síndrome de apnea infantil. *Pediatr*
- trics (ed esp). 22: 130-134; 1986.
- OWENS PC, SMITH R. Opioid peptides in blood and cerebrospinal fluid during acute stress. *Baillieres Clin Endocrinol. Metab.* 1: 415-437. 1987.
- PASI A, FOLETTA D, MOLZ G. Regional levels of beta-lipotropin and beta-endorphin in the brain and the hypophysis of victims of sudden infant death syndrome. *Arch Pathol Lab Med.* 107: 336-337; 1983.
- PASTERNAK GW, CHILDERS SR, SNYDER SM. Opiate analgesia: Evidence for mediation by a subpopulation of opiate receptors. *Science.* 208: 514-516; 1980.
- PATERSON SJ, ROBSON LE, KOSTERLITZ HW. Classification of opioid receptors. *Br Med Bull.* 39: 31-36; 1983.
- PERT CB, SNYDER SH. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue. *Science.* 179: 1011-1014; 1973.
- PERT CB, SNYDER SH. Opiate receptor binding of agonist and antagonists affected differentially by sodium. *Mol Pharmacol.* 10: 868-879; 1974.
- PETER WP, JOHNSON MW, FRIEDMAN PA, MITCH WE. Pressor effect of naloxone in septic shock. *Lancet* 1: 529-532; 1981.
- PETRUCHA R, GOEBELSMANN U, HUNG T, HAASE H, LOBO R. Amniotic fluid beta-lipotropin concentrations during the second and third trimesters. *Am J Obstet Gynecol.* 164: 644-651; 1983.
- PFEIFFER A, FEVERSTEIN G, ZERBE RL, FADEN AI, KOPIN JJ. "Mu"-receptors mediate opioid cardiovascular effects at anterior hypothalamic sites through sympatho-adrenomedullary and parasympathetic pathways. *Endocrinol.* 113: 929-938; 1983.
- PFEIFFER A, HERZ A. Endocrine actions of opioids. *Horm Metabol Res.* 16: 386-397; 1984.

TESIS DOCTORAL 75

A JULFO SANCHEZ MARENCO

BIBLIOGRAFIA

- PHIBBS RH. Manejo del recién nacido en la sala de partos. En: Avery GB (ed.): *Neonatología: Fisiopatología y manejo del recién nacido*. Buenos Aires. 3ª ed. (esp.). Ed. Médica Panamericana S A. 232-250; 1990.
- POCHARD JK, LUTZ-BUCHER B. Niveles de vasopresina y oxitocina en neonatos. Relación con la evolución del parto y las beta-endorfinas. *Acta Paediatr Scand*. 3: 849-853; 1986.
- PRZEWLOCKI R, HOLLT V, VOIGT KH, HERZ A. Distinctive in vitro release of beta-endorphin from the anterior compared to the posterior/intermediate lobe of rat pituitary. *Life Sci*. 26: 1601; 1979.
- QUIGLEY ME, YEN SS. The role of endogenous opiates on LH secretion during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab*. 51: 179-181; 1980.
- RADOSEVICH PM, NASH JA, LACY DB, O'DONOVAN C, WILLIAMS PE, ABUMRAD NN. Effects of low- and high-intensity exercise on plasma and cerebrospinal fluid levels of beta-endorphin, ACTH, cortisol, norepinephrine and glucose in the conscious dog. *Brain Res*. 498: 89-98; 1989.
- RÄISÄNEN I, PLAATERO H, SALIMINEN K, LAATIKAINEN T. beta-Endorphin in maternal and umbilical cord plasma at elective cesarean section and in spontaneous labor. *Obstet Gynecol*. 67: 384-387; 1986.
- REES LH, BURKE CW, CHARD T, EVANS SW, LETCHWORTH AT. Possible placental origin of ACTH in normal human pregnancy. *Nature*. 254: 620-622; 1975.
- REID RL, YEN SS. Beta-endorphin stimulated secretion of insulin and glucagon in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 52: 592-594; 1981.
- RIVIER C, VALE W, LIN G, BROWN M, GUILLEMIN R. Stimulation in vivo of the secretion of prolactin and growth hormone by beta-endorphin. *Endocrinol*. 100: 238-241; 1977.
- ROSENBLATT M. The endogenous opiate peptides. En: Harrison (ed.): *Principles of Internal Medicine*. 11th edition. San Francisco. Ed. McGraw-Hill. 378-382; 1987.
- ROPERT J, QUIGLEY M, YEN S. Endogenous opiates modulate pulsatile luteinizing hormone release in human. *J Clin Endocrinol Metab*. 55: 583-585; 1981.
- ROSSIER J, VARGO TM, MINICK S, LING N, BLOOM F, GUILLEMIN R. Regional dissociation of beta-endorphin contents in rat brain and pituitary. *Proc Natl Sci USA*. 74: 5162-5165; 1977.
- ROSSIER J. Opioid peptides have found their roots. *Nature*. 298: 221-222; 1982.
- RUTH V, POHJAVUORI M, ROVAMO L, SALMINEN K, LAATIKAINEN T. Plasma beta-Endorphin in perinatal asphyxia and respiratory difficulties in newborn infants. *Pediatr Res*. 20: 577-580; 1986.
- SANCHEZ-VILLARES E, BLANCO-QUIROS A. Etica en la investigación pediátrica. *An Esp Pediatr*. 22: 107-113; 1985.
- SANKARAN H, HINDMARSH KW, WATSON VG. Plasma beta-endorphin concentration in infants with apneic spells. *Am J Perinatol*. 1: 331-334; 1984.
- SANKARAN K, HINDMARSH KW, VALLACE SM, MCKAY RJ, O'DONELL M. Cerebrospinal fluid and plasma beta-endorphin concentrations in prolonged apnea (near-miss sudden infant death syndrome). *Dev Pharmacol Ther*. 9: 224-230; 1986.
- SANTOS J. Utilización de las técnicas del DNA recombinante para la identificación y análisis de genes que codifican péptidos neuroendocrinos. *Endocrinología*. 35: 50-67; 1988.
- SAWYNOK J, PINSKY C, LABELLA F. Minireview on the specificity of naloxone as an opiate antagonist. *Life Sci*. 25: 1621-1632; 1979.

- SCARDELLA AT, PARISI RA, PHAIR DK, SANTIAGO TV, EDELMAN NH. The role of endogenous opioids in the ventilatory response to acute flow-resistive loads. *Am Rev Respir Dis.* 133: 26-31; 1986.
- SCHLACHTER LB, WARDLAW SL, TINDALL GT, FRANTZAG. Persistence of beta-Endorphin in human cerebrospinal fluid after hypophysectomy. *J Clin Endocrinol Metab.* 57: 221-224; 1983.
- SCHULZ R, WUSTER M, KREUSS H, HERZ A. Selective development of tolerance with out dependence in multiple opiate receptors of mouse vas deferens. *Nature.* 285: 242-243; 1980.
- SHAABAN M, HUNG T, HOFFMAN D, LOBO R, GOBELSMAN N. beta- Endorphin and beta- lipotropin concentrations in umbilical cord blood. *Am J Obstet Gynecol.* 144: 560-568; 1982.
- SHARP B, PEKARY A, MEYER N, HERSHMAN J. beta-Endorphin in male rat reproductive organs. *Bioch Biophys Res Commun.* 95: 618-623; 1980.
- SILMAN R, CHARD T, LOWRY P, SMITH I, YOUNG I. Human fetal pituitary peptides and parturation. *Nature.* 260: 716-718; 1976.
- SJOLUND B, TERENIUS L, ERIKSSON M. Increased cerebrospinal fluid levels of endorphins after electroacupuncture. *Acta Physiol Scand.* 100: 382-384; 1977.
- SKILLMAN CA, CLARD KE. Fetal beta-endorphin levels in response to reductions in uterine blood flow. *Biol Neonate.* 51: 217-223; 1987.
- SOUTHALL DP. Cerebrospinal fluid endorphins and the infant apnea syndrome. *Pediatrics.* 79: 838-839; 1987.
- SPIER I, MULITCH M. Lack of modulation of pituitary hormone stress response by neural pathways involving opiate receptors. *J Clin Endocrinol Metab.* 50: 516-520; 1980.
- STANISZA, SCICCHITANO R, STEAD R, MATSUDA H, TOMIODA M, DENBURG J, BIENENSTOCK J. Neuropeptides and immunity. *Am Rev Respir Dis.* 136: s48-s51; 1987.
- STARK R, WARDLAW S, DANIEL S, HUSAIN M, SANOCKA U, JAMES L, VANDEMIELE R. Vasopressin secretion induced by hypoxia in sheep: Developmental changes and relationship to beta-endorphin release. *Am J Obstet Gynecol.* 143: 204-215; 1982.
- STARK R, FRANTZ A. ACTH-beta-endorphina en el embarazo. *Clin Perinatol.* 3: 651-665; 1983.
- SUMHAR A, MARKS N. Purification and properties of cathepsin B: evidences for cleavage of pituitary lipotropins. *Eur J Biochem.* 101: 23-30; 1979.
- TERENIUS L, WOHLSTROM A. Inhibitors of narcotic receptor binding in brain extracts and cerebral spinal fluid, abstracted. *Acta Pharmacol.* 35: 55; 1974.
- TERENIUS L, WASHLSTROM A. Search for an endogenous ligand for the opiate receptor. *Acta Physiol Scand.* 94: 74-81; 1975.
- TERENIUS L, WAHLSTROM A, LINDSTROM L, et al. Increased CSF level of endorphins in chronic psychosis. *Neurosci Lett.* 3: 157-162; 1976.
- TILDERS F, SMELIK P. Direct neural control of MSH secretion in mammals: the involvement of dopaminergic tuberohypophysial neurones. *Front Hormone Res.* 4: 80; 1977.
- TODD D. Apgar scores and cerebrospinal fluid beta-endorphinlike immunoreactivity. *Am J Dis Child.* 140: 91-92; 1986.
- TOLIS G, HICKEY J, GUYDA H. Effects of morphine on serum growth hormone, cortisol, prolactin and TSH in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 41: 797-800; 1975.
- TONELLI L, SETTI T, FALASCAA, MARTIGNONI E, TORCIA E, CALCATERRA FM, MERLI GA,

BIBLIOGRAFIA

- FACCHINETTI F. Investigation on cerebrospinal fluid opioids and neurotransmitters related to spinal cord stimulation. *Appl Neurophysiol.* 51: 324-332; 1988.
- TUIMULA R, KAUPPILA A, HAAPALAHTI J. ACTH levels in amniotic fluid during pregnancy. 83: 853-856; 1976.
- UDDMAN R, SUNDLER F. neuropeptides in the airways: a review. *Am Rev Respir Dis.* 136: s3-s8; 1987.
- UMANS J, SZETO H. Precipitated opiate abstinence in utero. *Am J Obst Gynecol.* 151: 441-444; 1985.
- VALE W, SPIESS J, RIVIER C. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotrophin and beta-endorphin. *Science.* 213: 1394; 1981.
- VALENSISE H, CIOTTI G, PERRETTA G, ARDUINI D, GARZETTI G, ROMANINI C. Endogenous opioids and behavioural states: studies on macaca fascicularis fetus. In: Cosmi EV and Di Renzo GC (eds.): XI European Congress of Perinatal Medicine. Rome. Italy. April. 10-13; Ed. C/C. CIC. Edizione Internazionali. 53; 1988.
- VAN VUGT D, MEITES J. Influence of endogenous opiates on anterior pituitary secretion. *Fed Proc.* 39: 2533-2538; 1980.
- VINTZILEOS AM, GAFFNEY SE, SALINGER LM, KONTOPOULOS VG, CAMPBELL WA, NOCHIMSON DJ. The relationships among the fetal biophysical profile umbilical cord pH, and Apgar scores. *Am J Obstet Gynecol.* 157: 627-631; 1987.
- VISSER M, SWAAB D. Life span changes in the presence of alpha-melanocyte stimulating-hormons-containing cells in the human pituitary. *J Dev Physiol.* 1: 161-164; 1979.
- VIVEROS O, WILSON S. The adrenal chromaffin cell as a model to study the cosecretion of enkephalins and catecholamines. *J Auton Nerv Syst.* 7: 41-58; 1983.
- VOLPE A, FACCHINETTI F, PETRAGLIA C, CIUNIA, GENAZZANI A. Reduction of beta-endorphin levels in the Amniotic fluid of heroin addicts. *Obstet Gynecol.* 68: 606-609; 1986.
- VON KNORRING L, ALMAY B, JOHANSSON F. Pain perception and endorphin levels in cerebrospinal fluid. *Pain.* 5: 359; 1978.
- WAMSLEY J, ZARBIN M, YOUNG W. Distribution of opiate receptors in the monkey brain: An autoradiographic study. *Neurosci.* 7: 595-613; 1982.
- WARDLAW S, STARK R, BAXI L, FRANTZ A. Plasma beta-endorphin and beta-lipotropin in the human fetus at delivery: correlation with arterial pH and pO₂. *J Clin Endocrinol Metab.* 49: 888-891; 1979.
- WARDLAW S, STARK R, DANIEL S, FRANTZ A. Effects of hypoxia on beta-endorphin and beta-lipotropin release in fetal newborn, and maternal sheep. *Endocrinol.* 108: 1710-1715; 1981.
- WARDLAW S, FRANTZ A. Brain beta-endorphin during pregnancy parturition, and the postpartum period. *Endocrinol.* 113: 1664-1668; 1983.
- WEINBERGER SE, STEINBROOK RA, CARR DB, FENCL V, GABEL RA, LEITH DD, FISHER JE, HARRIS R, ROSSENBLATT M. Endogenous opioids and ventilatory adaptation to prolonged hypoxia in goats. *Lif Sci.* 40: 605-613; 1986.
- WEITZMAN R, FISHER D, MINICK S, LING N, GUILLEMIN R. Beta-endorphin stimulates secretion of arginine-vasopressin in vivo. *Endocrinol.* 101: 1643-1646; 1977.
- WOLOZIN B, NISHIMURA S, PASTERNAK G. The binding of kappa-and-sigma-opiates in rat brain. *J Neurosci.* 2: 708-713; 1982.
- WRIGHT D, PHILLIPS M, WELLER M. Naloxone in shock. *Lancet.* 2: 1361; 1980.
- YAO JJ, CHENG Z, CE CC, HAI WC, XIANG

ADULFO SANCHEZ MARENCO

BIBLIOGRAFIA

ZY, CHENG LB. Beta- endorphin-like immunoreactivity increases in cerebrospinal fluid of acute head-injured patients. *Neuropeptides* 12: 177-179; 1978.

ZAKARIAN S, SMIYTH D. Distribution of beta-endorphin-related peptides in rat pituitary and brain. *Biochem J.* 202: 561-571; 1982.

ZHANGA Z, PASTERNAK G. Mu and delta-

opiate receptors: correlation with high and low affinity opiate binding sites. *Eur J Pharmacol.* 67: 323-324; 1980.

ZIVNY J, KOBILKOVA J, VORLICEK J, ZAPADLO M. Plasma beta- endorphin-like immunoreactivity during pregnancy, parturation, puerperium and in newborn. *Acta Obst Gynecol Scand.* 65: 129-131; 1986.

ANEXO

TRATAMIENTO ESTADISTICO

**GRUPO DE RECIEN NACIDOS ANALIZADOS EN EL
MOMENTO DEL PARTO (PLASMA)**

EDAD GESTACIONAL

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
37.0000	4	4	8.5	8.5	-2.06512
38.0000	6	10	12.8	21.3	-1.26297
39.0000	7	17	14.9	36.2	-.460812
40.0000	20	37	42.6	78.7	.341342
41.0000	9	46	19.1	97.9	1.14350
42.0000	1	47	2.1	100.0	1.94565
TOTAL	47	47	100.0	100.0	

PESO AL NACIMIENTO

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
2560.00	1	1	2.1	2.1	-2.62810
2850.00	1	2	2.1	4.3	-1.73548
2900.00	1	3	2.1	6.4	-1.58157
3000.00	1	4	2.1	8.5	-1.27377
3050.00	1	5	2.1	10.6	-1.11987
3100.00	2	7	4.3	14.9	-.965972
3150.00	3	10	6.4	21.3	-.812071
3180.00	1	11	2.1	23.4	-.719731
3200.00	1	12	2.1	25.5	-.658171
3220.00	2	14	4.3	29.8	-.596611
3230.00	1	15	2.1	31.9	-.565830
3250.00	2	17	4.3	36.2	-.504270
3280.00	2	19	4.3	40.4	-.411930
3300.00	1	20	2.1	42.6	-.350370
3350.00	2	22	4.3	46.8	-.196469
3360.00	3	25	6.4	53.2	-.165689
3420.00	2	27	4.3	57.4	1.89919E-002
3480.00	2	29	4.3	61.7	.203673
3500.00	2	31	4.3	66.0	.265233
3560.00	1	32	2.1	68.1	.449914
3570.00	1	33	2.1	70.2	.480634
3600.00	1	34	2.1	72.3	.573034
3630.00	1	35	2.1	74.5	.665375
3670.00	1	36	2.1	76.6	.788495
3720.00	1	37	2.1	78.7	.942396
3750.00	2	39	4.3	83.0	1.03474
3800.00	2	41	4.3	87.2	1.18964
3820.00	1	42	2.1	89.4	1.25020
3880.00	2	44	4.3	93.6	1.43488
3900.00	1	45	2.1	95.7	1.49644
4040.00	1	46	2.1	97.9	1.92736
4080.00	1	47	2.1	100.0	2.05048
TOTAL	47	47	100.0	100.0	

pH DE ARTERIA UMBILICAL

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
6.99000	1	1	2.1	2.1	-2.21896
7.01000	1	2	2.1	4.3	-2.00370
7.02000	1	3	2.1	6.4	-1.89608
7.05000	2	5	4.3	10.6	-1.57319
7.06000	1	6	2.1	12.8	-1.46557
7.07000	1	7	2.1	14.9	-1.35794
7.08000	1	8	2.1	17.0	-1.25031
7.09000	2	10	4.3	21.3	-1.14268
7.13000	2	12	4.3	25.5	-.712173
7.14000	1	13	2.1	27.7	-.604546
7.16000	1	14	2.1	29.8	-.389291
7.17000	3	17	6.4	36.2	-.281663
7.18000	1	18	2.1	38.3	-.174036
7.20000	6	24	12.8	51.1	4.12190E-002
7.21000	1	25	2.1	53.2	.148847
7.22000	1	26	2.1	55.3	.256474
7.23000	1	27	2.1	57.4	.364101
7.24000	3	30	6.4	63.8	.471729
7.25000	2	32	4.3	68.1	.579356
7.26000	2	34	4.3	72.3	.686984
7.27000	3	37	6.4	78.7	.794611
7.28000	3	40	6.4	85.1	.902239
7.30000	2	42	4.3	89.4	1.11749
7.31000	1	43	2.1	91.5	1.22512
7.32000	2	45	4.3	95.7	1.33275
7.33000	2	47	4.3	100.0	1.44038
TOTAL	47	47	100.0	100.0	

LACTACIDEMIA

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
2.76000	1	1	2.1	2.1	-.791047
2.77000	1	2	2.1	4.3	-.786207
2.80000	2	4	4.3	8.5	-.771685
2.83500	1	5	2.1	10.6	-.754743
2.84000	1	6	2.1	12.8	-.752322
2.88000	1	7	2.1	14.9	-.732960
2.93000	1	8	2.1	17.0	-.708757
2.96000	4	12	8.5	25.5	-.694235
2.96800	1	13	2.1	27.7	-.690362
3.00000	1	14	2.1	29.8	-.674872
3.00040	1	15	2.1	31.9	-.674679
3.01110	1	16	2.1	34.0	-.669499
3.02200	1	17	2.1	36.2	-.664223
3.04000	2	19	4.3	40.4	-.655510
3.05000	1	20	2.1	42.6	-.650669
3.07500	1	21	2.1	44.7	-.638568
3.08530	1	22	2.1	46.8	-.633582
3.11000	2	24	4.3	51.1	-.621626
3.14000	1	25	2.1	53.2	-.607104
3.18000	2	27	4.3	57.4	-.587741
3.47000	1	28	2.1	59.6	-.447364
3.98000	1	29	2.1	61.7	-.200492
4.14000	1	30	2.1	63.8	-.123042
4.30000	1	31	2.1	66.0	-4.55924E-002
4.35000	1	32	2.1	68.1	-2.13893E-002
4.60000	1	33	2.1	70.2	9.96260E-002
4.68000	1	34	2.1	72.3	.138351
4.80000	1	35	2.1	74.5	.196438
5.50000	1	36	2.1	76.6	.535281
6.35000	1	37	2.1	78.7	.946734
6.40000	1	38	2.1	80.9	.970937
7.25000	1	39	2.1	83.0	1.38239
7.45000	1	40	2.1	85.1	1.47920
7.58000	1	41	2.1	87.2	1.54213
8.02000	1	42	2.1	89.4	1.75512
8.35000	1	43	2.1	91.5	1.91486
8.49000	1	44	2.1	93.6	1.98263
8.50000	2	46	4.3	97.9	1.98747
9.35000	1	47	2.1	100.0	2.39892
TOTAL	47	47	100.0	100.0	

BETA-ENDORFINA

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
0.00000	3	3	6.4	6.4	-1.81793
.200000	1	4	2.1	8.5	-1.80367
.700000	1	5	2.1	10.6	-1.76804
4.00000	1	6	2.1	12.8	-1.53288
7.00000	1	7	2.1	14.9	-1.31910
7.40000	1	8	2.1	17.0	-1.29060
9.00000	1	9	2.1	19.1	-1.17658
10.0000	1	10	2.1	21.3	-1.10532
18.7000	1	11	2.1	23.4	-.485347
18.9000	1	12	2.1	25.5	-.471095
19.8900	1	13	2.1	27.7	-.400547
20.7700	1	14	2.1	29.8	-.337837
21.9500	1	15	2.1	31.9	-.253749
22.0000	1	16	2.1	34.0	-.250186
22.2000	1	17	2.1	36.2	-.235934
22.4800	1	18	2.1	38.3	-.215981
24.1700	1	19	2.1	40.4	-9.55502E-002
25.0000	1	20	2.1	42.6	-3.64037E-002
26.6100	1	21	2.1	44.7	7.83263E-002
27.6900	1	22	2.1	46.8	.155288
28.3000	2	24	4.3	51.1	.198757
28.4500	3	27	6.4	57.4	.209446
29.4900	1	28	2.1	59.6	.283558
30.0000	1	29	2.1	61.7	.319901
30.5200	1	30	2.1	63.8	.356956
31.0400	1	31	2.1	66.0	.394012
32.0700	2	33	4.3	70.2	.467411
32.7400	1	34	2.1	72.3	.515156
33.6200	1	35	2.1	74.5	.577865
34.1300	1	36	2.1	76.6	.614208
35.1700	1	37	2.1	78.7	.688320
35.3200	1	38	2.1	80.9	.699009
36.0000	1	39	2.1	83.0	.747466
36.3500	1	40	2.1	85.1	.772407
38.9400	2	42	4.3	89.4	.956973
40.0000	1	43	2.1	91.5	1.03251
42.0000	1	44	2.1	93.6	1.17503
51.0000	1	45	2.1	95.7	1.81638
53.0000	1	46	2.1	97.9	1.95890
56.0000	1	47	2.1	100.0	2.17268
TOTAL	47	47	100.0	100.0	

HORMONA ADRENOCORTICOTROPA

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
2.00000	2	2	4.3	4.3	-1.83716
8.50000	1	3	2.1	6.4	-1.56829
10.0000	1	4	2.1	8.5	-1.50625
14.0000	2	6	4.3	12.8	-1.34079
16.0000	1	7	2.1	14.9	-1.25806
18.0000	1	8	2.1	17.0	-1.17533
23.0000	1	9	2.1	19.1	-.968513
25.0000	1	10	2.1	21.3	-.885785
26.0000	1	11	2.1	23.4	-.844420
29.3600	2	13	4.3	27.7	-.705437
32.1800	1	14	2.1	29.8	-.588789
34.2800	1	15	2.1	31.9	-.501924
35.0000	1	16	2.1	34.0	-.472142
37.1000	1	17	2.1	36.2	-.385277
38.0000	1	18	2.1	38.3	-.348049
39.9300	1	19	2.1	40.4	-.268216
40.0000	1	20	2.1	42.6	-.265321
42.3800	1	21	2.1	44.7	-.166874
40.1800	1	22	2.1	46.8	-7.30387E-002
52.0000	1	23	2.1	48.9	.231050
52.2200	2	25	4.3	53.2	.240150
52.5800	3	28	6.4	59.6	.255041
52.6300	1	29	2.1	61.7	.257110
55.0400	1	30	2.1	63.8	.356797
56.2700	1	31	2.1	66.0	.407676
57.5000	1	32	2.1	68.1	.458554
58.7300	1	33	2.1	70.2	.509432
61.1900	2	35	4.3	74.5	.611188
62.7800	1	36	2.1	76.6	.676957
64.8800	1	37	2.1	78.7	.763822
65.0000	1	38	2.1	80.9	.768785
66.1100	1	39	2.1	83.0	.814700
67.7000	1	40	2.1	85.1	.880469
68.5800	1	41	2.1	87.2	.916869
68.9300	1	42	2.1	89.4	.931347
71.3900	1	43	2.1	91.5	1.03310
77.5500	2	45	4.3	95.7	1.28791
94.0000	1	46	2.1	97.9	1.96835
116.000	1	47	2.1	100.0	2.87836
TOTAL	47	47	100.0	100.0	

**GRUPO DE RECIEN NACIDOS ANALIZADOS EN EL
PERIODO NEONATAL (LCR)**

EDAD GESTACIONAL

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
32.0000	3	3	13.0	13.0	-1.92119
33.0000	1	4	4.3	17.4	-1.62060
35.0000	1	5	4.3	21.7	-1.01941
37.0000	1	6	4.3	26.1	-.418219
38.0000	2	8	8.7	34.8	-.117624
39.0000	3	11	13.0	47.8	.182971
40.0000	6	17	26.1	73.9	.483565
41.0000	4	21	17.4	91.3	.784160
42.0000	1	22	4.3	95.7	1.08475
43.0000	1	23	4.3	100.0	1.38535
TOTAL	23	23	100.0	100.0	

PESO AL NACIMIENTO

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
1420.00	2	2	8.7	8.7	-1.78334
1720.00	1	3	4.3	13.0	-1.45077
1900.00	1	4	4.3	17.4	-1.25123
2200.00	1	5	4.3	21.7	-.918660
2300.00	1	6	4.3	26.1	-.807804
2410.00	1	7	4.3	30.4	-.685862
2600.00	1	8	4.3	34.8	-.475236
2900.00	1	9	4.3	39.1	-.142667
3200.00	1	10	4.3	43.5	.189901
3290.00	1	11	4.3	47.8	.289672
3300.00	2	13	8.7	56.5	.300758
3350.00	1	14	4.3	60.9	.355186
3360.00	1	15	4.3	65.2	.367271
3440.00	1	16	4.3	69.6	.455956
3470.00	1	17	4.3	73.9	.489213
3480.00	1	18	4.3	78.3	.500299
3800.00	1	19	4.3	82.6	.855038
3860.00	1	20	4.3	87.0	.921552
3910.00	1	21	4.3	91.3	.976980
4050.00	1	22	4.3	95.7	1.13218
4980.00	1	23	4.3	100.0	2.16314
TOTAL	23	23	100.0	100.0	

PH DE ARTERIA UMBILICAL

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
6.64000	1	1	4.3	4.3	-3.06039
6.69000	1	2	4.3	8.7	-2.75255
7.05000	1	3	4.3	13.0	-.864084
7.14000	1	4	4.3	17.4	-.381967
7.15000	1	5	4.3	21.7	-.328398
7.19000	1	6	4.3	26.1	-.114124
7.20000	1	7	4.3	30.4	-6.05557E-002
7.26000	1	8	4.3	34.8	.260855
7.28000	2	10	8.7	43.5	.367992
7.29000	4	14	17.4	60.9	.421561
7.30000	3	17	13.0	73.9	.475130
7.31000	4	21	17.4	91.3	.528698
7.32000	1	22	4.3	95.7	.582267
7.36000	1	23	4.3	100.0	.726541
TOTAL	23	23	100.0	100.0	

APGAR AL MINUTO DE VIDA

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
1.00000	3	3	13.0	13.0	-1.42530
2.00000	3	6	13.0	26.1	-1.02552
3.00000	3	9	13.0	39.1	-.625741
4.00000	3	12	13.0	52.2	-.225962
5.00000	1	13	4.3	56.5	.173817
6.00000	5	18	21.7	78.3	.573596
7.00000	1	19	4.3	82.6	.973375
8.00000	3	22	13.0	95.7	1.37315
9.00000	1	23	4.3	100.0	1.77293
TOTAL	23	23	100.0	100.0	

APGAR A LOS CINCO MINUTOS DE VIDA

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
2.00000	1	1	4.3	4.3	-2.04124
3.00000	1	2	4.3	8.7	-1.63299
4.00000	1	3	4.3	13.0	-1.22474
5.00000	5	8	21.7	34.8	-.816497
6.00000	2	10	8.7	43.5	-.408248
7.00000	3	13	13.0	56.5	0.00000
9.00000	6	19	26.1	82.6	.816497
10.0000	4	23	17.4	100.0	1.22474
TOTAL	23	23	100.0	100.0	

Días de vida postnatal

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
1.00000	4	4	17.4	17.4	-.904956
2.00000	4	8	17.4	34.8	-.774051
3.00000	2	10	8.7	43.5	-.643145
4.00000	1	11	4.3	47.8	-.512239
5.00000	1	12	4.3	52.2	-.381334
6.00000	1	13	4.3	56.5	-.250428
7.00000	1	14	4.3	60.9	-.119523
10.0000	2	16	8.7	69.6	.273194
12.0000	1	17	4.3	73.9	.535006
13.0000	2	19	8.7	82.6	.665911
17.0000	2	21	8.7	91.3	1.18953
20.0000	1	22	4.3	95.7	1.58225
30.0000	1	23	4.3	100.0	2.89131
TOTAL	23	23	100.0	100.0	

BETA-ENDORFINORRAQUIA

VALUE	FREQ	CUM FREQ	%	CUM %	Z SCORE
44.0000	1	1	4.3	4.3	-1.92116
73.0000	1	2	4.3	8.7	-1.64800
83.0000	1	3	4.3	13.0	-1.55380
93.0000	1	4	4.3	17.4	-1.45961
138.000	1	5	4.3	21.7	-1.03573
146.000	1	6	4.3	26.1	-.960377
148.000	1	7	4.3	30.4	-.941538
166.000	1	8	4.3	34.8	-.771987
270.000	1	9	4.3	39.1	.207638
289.000	1	10	4.3	43.5	.386608
293.000	1	11	4.3	47.8	.424286
317.000	1	12	4.3	52.2	.650353
325.000	2	14	8.7	60.9	.725709
328.000	2	16	8.7	69.6	.753968
332.000	3	19	13.0	82.6	.791645
333.000	1	20	4.3	87.0	.801065
336.000	3	23	13.0	100.0	.829323
TOTAL	23	23	100.0	100.0	