

REAL ACADEMIA DE MEDICINA DE SALAMANCA

**EL ÁCIDO LÁCTICO:  
DE VILLANO A HÉROE  
DE LA HOMEOSTASIS  
ENERGÉTICA PERINATAL**

DISCURSO

para la recepción del Académico Electo  
ÍLMO. DR. D. JOSÉ MARÍA MEDINA JIMÉNEZ

y contestación del

EXCMO. DR. D. JULIO RODRÍGUEZ VILLANUEVA  
Académico de Número de la  
Real Academia de Medicina de Salamanca



SALAMANCA, 2010

*Printed in Spain.* Impreso en España  
Depósito legal: S. 1252-2010

GRÁFICAS CERVANTES, S.A.  
Ronda de Sancti-Spíritus, 9-11  
37001 Salamanca

## ÍNDICE

Preámbulo .....	9
Introducción.....	19
Homeostasis energética perinatal .....	27
Vulnerabilidad bioquímica del neonato prematuro .....	55
El proceso hipóxico-isquémico en el sistema nervioso central .....	71
Epílogo .....	87
Discurso de contestación del Excmo. Sr. Dr. D. Julio R. Villanueva .....	93



*Entre todas las cosas que por experiencia los ombres hallaron:  
o por revelación divina nos fueron demostradas para polir e adornar  
la vida humana: ninguna otra fue tan necesaria: ni que maiores  
provechos nos acarrase: que la invención de las letras.*

## PREÁMBULO

Excelentísimo Señor Presidente  
Excelentísimos Señoras y Señores Académicos  
Señoras y Señores

Si traigo a colación estas palabras de Elio Antonio de Nebrija, concretamente del capítulo segundo de su “Gramática de la lengua castellana”, de 1492, no es por el hecho de que se dé la curiosa circunstancia de que su nacimiento ocurriese exactamente quinientos años antes que el mío, ni de que, como yo, viniese de Andalucía para enseñar en Salamanca, ni mucho menos de que, como yo, fuese notable en esta universidad por su característico acento sureño. No, cito aquí estas palabras para reivindicar esta lengua común que nos permite transmitir a nuestros alumnos el fruto de nuestro estudio y reflexiones, aquél que nos faculta para hablar con 360 millones de personas, aquél en el que se han escrito los más bellos e inteligentes pasajes. Aquél que nos permite transmitir con precisión nuestra ciencia, aun en el caso de que, como la mía, haya nacido y se haya escrito en otra lengua, cuya traducción fidedigna a menudo consideramos imposible. Traigo aquí estas palabras, pues, al igual que Nebrija conocía a la perfección el latín pero se empeñó

en el correcto uso del castellano, así nosotros hagamos el esfuerzo de trasladar al español los términos foráneos, aunque por comodidad o esnobismo tendríamos en contrario.

Espero sean indulgentes con este pequeño desahogo de alguien que, como yo, soñaba en escribir grandes pasajes en castellano y se ha visto obligado a escribir más de un centenar de artículos en inglés.

Pero una vez dicho esto, permítanme que pase al tema de este discurso, no sin antes detenerme en agradecer a todos aquellos que me han ayudado en el camino que momentáneamente se detiene aquí, en esta sólida cátedra que antes que a mí albergó a tan insignes maestros.

Se dan circunstancias en la vida que uno agradece por su significado mágico. Éstas son las circunstancias que se concitan en los tres académicos que apoyan mi candidatura para ingresar en esta prestigiosa institución. Pues así como con el entusiasmo con que los tres apoyaron mi ingreso en esta Real Academia, así intervinieron decisivamente en mi asentamiento en Salamanca.

El primero de ellos, el Profesor Rodríguez Villanueva, cuando conoció la noticia de que había accedido a la cátedra de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de esta universidad, dedicó todo su empeño para que mi adaptación a la ciudad, a la facultad y al entorno científico fuera lo más agradable posible. Así, me ofreció su apoyo científico desde el Instituto de Microbiología Bioquímica que él había fundado en Salamanca a su regreso de la Universidad de Cambridge y que, por entonces, ya había alcanzado las más altas cotas de excelencia científica. Pero, aún más, su ayuda se extendió al terreno personal, pues se ofreció y consiguió con éxito plaza para mis hijos en los colegios, en un momento de gran dificultad, dado lo tardío de las fechas y la escasez de plazas escolares. Desde entonces, la amistad

que manteníamos se reforzó aún más con la circunstancia de ser nombrados, ambos, miembros del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces, del que en la actualidad el Profesor Villanueva es Vicepresidente. Así fue cómo el Profesor Villanueva se convirtió en mi mentor, a la vez que en el ejemplo del científico al que la ciencia española y, particularmente la de Salamanca, tanto debe. Aprendí con él la necesidad que la ciencia tiene de conectar con la sociedad que le rodea, sin cuya ayuda las mejores ideas pueden quedar ignoradas. Aprendí que la sociedad debe conocer nuestros descubrimientos, para que se sienta solidaria con ellos y dedique los fondos necesarios para su promoción y desarrollo. De hecho, la simple presencia del Profesor Villanueva en un acto, ha constituido, durante estos últimos años, la prueba más genuina del interés de la ciencia española por estar presente en la sociedad como un agente imprescindible en su desarrollo. Gracias, D. Julio, por su amistad y apoyo.

El Profesor Domínguez-Gil Hurlé era, a mi llegada a Salamanca, Vicerrector de Investigación. Pues bien, no sólo me ofreció una calurosa bienvenida sino, lo más sorprendente, consiguió fondos suficientes para comenzar con la dotación de mis laboratorios, que partían de cero, ante el inminente traslado al nuevo edificio de la Facultad de Farmacia. Pero aún más importante, junto con la ilusión de empezar una nueva etapa en mi carrera académica tuve la alegría de compartir con el Profesor Domínguez-Gil Hurlé la ilusión de crear una facultad, que no sólo cumpliera a la perfección su labor docente e investigadora, sino que sirviera, además, como un referente de una facultad nueva y renovada, que diera al farmacéutico la dimensión de su verdadera misión en la sociedad, es decir, proporcionar los medios para disminuir el sufrimiento y contribuir a la curación de aquéllos que sufren la enfermedad y sus devastadoras secuelas. Con la perspectiva de los treinta años

transcurridos, podemos asegurar que aquellos deseos están plenamente cumplidos, pues la Facultad de Farmacia se ha desarrollado en plena conjunción con las instituciones sanitarias hasta alcanzar un reconocido prestigio nacional e internacional. Esto último está plenamente refrendado por el alto número de alumnos Erasmus que nos visitan cada año. Gracias, Alfonso, por tu apoyo y amistad.

A mi llegada a Salamanca, el Profesor Battaner pronto me contagió su entusiasmo por una docencia integrada de la Bioquímica que, junto con el Profesor Reglero, estuvimos a punto de realizar si no fuera porque sus respectivos traslados a la Universidad de La Laguna y de León, frustraron nuestros grandes proyectos. Asimismo, con su ofrecimiento incondicional para mi integración en los ambientes académicos salmantinos, me ofreció un puente extraordinario con la Facultad de Medicina, lo que me permitió contactar con su claustro de profesores, muchos de ellos aquí presentes. Gracias, Enrique, por tu amistad.

Junto con los que hoy apoyan mi candidatura quiero recordar también a aquéllos que, como los anteriores, contribuyeron decisivamente a mi rápida integración en la Universidad de Salamanca. Quiero destacar muy especialmente a los profesores Jesús Prieto y Félix Lorente que, junto a sus esposas, contribuyeron a nuestra rápida integración en Salamanca, sin olvidar su cuidado por la salud de nuestros hijos. De hecho, su extraordinaria cordialidad permitió menguar los efectos del gran sacrificio profesional que tuvo que realizar mi esposa al abandonar su plaza en el Hospital Ramón y Cajal de Madrid para acompañarme en mi traslado a Salamanca. Sirva este momento para agradecerle públicamente el constante apoyo que he recibido de ella a lo largo de mi trayectoria profesional y para pedirle perdón por no haber alcanzado tan altas metas como su sacrificio merecía. Siempre, junto con mis hijos Ana



y José María, ha sido la primera en alegrarse de mis éxitos y en celebrar los premios que he recibido. A ellos, posteriormente, se unieron Juanjo y Nani, quienes pacientemente atienden mis conferencias siempre muy alejadas de su especialización profesional. Pero volviendo al claustro de la Facultad de Medicina debo destacar, asimismo, a los profesores José Luis Gutiérrez y Luis Ortega que además de sus extraordinarios conocimientos profesionales me han ofrecido en estos años una recia amistad de la que estoy profundamente agradecido.

De mis colaboradores y amigos no voy a hacer una mención específica, pues cada uno sabe de los detalles de nuestra amistad y colaboración. Sí debo resaltar la suerte que he tenido de contar con su afecto y su ayuda profesional y me siento satisfecho de haber contribuido a iniciarlos en sus respectivas carreras docentes e investigadoras, aunque, como dice la letra de la famosa copla, “les enseñé a volar pero no puedo seguir su vuelo”.

Todos ellos se van a ver reflejados en este discurso, pues cada pasaje les recordará su participación en esta historia y volverán a evocar la emoción inigualable que se manifiesta cuando se contribuye al conocimiento de los seres vivos, a su nivel más íntimo, allí donde las moléculas dictan sus leyes, aunque encauzadas singularmente hacia el quebrantamiento de la entropía.

En estos agradecimientos no puedo olvidar a mi maestro, y no sólo porque parte del honor que hoy recibo se debe a su guía y enseñanza, sino porque su entusiasmo por el hombre y su preocupación por su sufrimiento, se ven hoy reflejados en este discurso, que quiere ser un acercamiento bioquímico al conocimiento de los sufrimientos que padecen nuestros recién nacidos cuando el curso de su desarrollo se ve frustrado por la intervención de circunstancias indeseadas.

De mi maestro, el Profesor Federico Mayor Zaragoza, he aprendido que lo importante no es investigar, sino investigar lo importante. Y lo importante es aquello que la sociedad demanda y, muy especialmente, aquello que demanda porque puede mejorar su verdadero bienestar, aquel que proviene de nuestro bien más apreciado: la salud. De él he aprendido a ser farmacéutico, es decir, a dedicar todos mis esfuerzos a intentar disminuir el sufrimiento de los demás. Él me hizo ver el sufrimiento del niño enfermo y cómo los bioquímicos podríamos contribuir a la prevención de sus enfermedades. Él me condujo a la Bioquímica Perinatal y, gracias a ello, he impulsado a mi grupo al estudio bioquímico del recién nacido, lo que nos ha permitido hacer algunas propuestas para la prevención de algunas secuelas neurológicas de las que hasta ahora se habían considerado como inevitables.

Antes de pasar al tema específico de mi discurso permítanme agradecerles, Excmos. Señoras y Señores académicos, el honor que hoy recibo al ingresar como académico de número de esta Real Academia de Medicina de Salamanca. Créanme que es para mí un enorme motivo de satisfacción recibir la confianza de este claustro, que representa lo más destacado de la intelectualidad salmantina. En este sentido, me siento arropado hoy por todos ustedes que han valorado mi *curriculum vitae* y han confiado en mí como futuro colaborador de los proyectos de esta digna corporación. Debo destacar de una manera particular las deferencias que he recibido del Presidente de esta Real Academia, el Profesor Dr. D. José Ángel García Rodríguez y que me animaron en el decisivo paso de optar por una plaza en esta digna institución. A los anteriores Presidente y Secretario, profesores José Antonio González y Luciano Muñoz Barragán, que tanto me ayudaron en mi esfuerzo de tender un puente entre esta Real Academia y la Academia Nacional de Medicina de México, a la que tanto me honro en

pertenecer. Y a todos ustedes que con su voto apoyaron mi entrada en esta ilustre Academia y que me han permitido la satisfacción de sentirme hoy entre ustedes.

En el año 1972 volvía de Inglaterra con la plena confianza en mí mismo que llevaba consigo haber culminado mi etapa postdoctoral con uno de los más eminentes científicos del momento: Sir Hans Krebs. De hecho, su cuantitativo concepto del metabolismo, unido a su profunda convicción de que los procesos bioquímicos sólo eran tales cuando se conocía la teleonomía de tan enrevesado conjunto de reacciones, había revolucionado la Bioquímica. En este sentido, él afirmaba que no había descubierto el ciclo tricarboxílico, el que luego llevó su nombre, el de ciclo de Krebs, sino que tuvo el honor de ser el primero en entender *para qué* servía el mencionado ciclo y que resultó ser para realizar el más grande paso evolutivo de los seres vivos, aquél que generaría la denominada “guerra del oxígeno”. En efecto, desde aquel momento, los seres vivos que aprendieron a utilizar el oxígeno como aceptor final de electrones multiplicaron por varios órdenes de magnitud su rendimiento energético, mientras que aquéllos que no dieron el paso decisivo fueron relegados a nichos marginales o murieron presa de sus radicales libres. Pues bien, Krebs fue el descubridor de esta turbina en la que se consumen los sustratos energéticos y que confiere a los seres aeróbicos este extraordinario poder con el que han dirigido férreamente la evolución.

Después de haber descubierto el ciclo de la urea, el ciclo tricarboxílico e infinidad de reacciones y de enzimas, en el momento que yo me incorporé a su laboratorio el profesor Krebs estaba empeñado en demostrar el valor fisiológico de los cuerpos cetónicos. Es necesario recordar que, hasta ese momento, los cuerpos cetónicos eran considerados metabolitos patológicos, que sólo se producían en la diabetes, en la cetosis séptica o en el último periodo del embarazo. Sin embargo,

los estudios de Krebs demostraron que los cuerpos cetónicos se producen en circunstancias fisiológicas y que constituyen un sustrato alternativo a la glucosa que permite el desarrollo del cerebro aún en las circunstancias menos favorables.

Pueden entender que, sumergido en este ambiente de tan profundo conocimiento del metabolismo, tomé el decidido propósito de que, junto al duro trabajo de laboratorio, debería adquirir un extenso conocimiento del metabolismo, si quería estar a la altura de las circunstancias. Dado que los cuerpos cetónicos se producen por la oxidación de los ácidos grasos, el trabajo me condujo al estudio del metabolismo de los lípidos. Esto fue afortunado, pues me permitió estudiar una parte del metabolismo para mí poco explorada. De hecho, mi trabajo de tesis había consistido en la dilucidación del mecanismo de acción del hipoglucemiante oral en boga, es decir, la fenformina, que luego resultó ser el cabeza de serie de un grupo de fármacos del que hoy es universalmente utilizado: la metformina. Después de infructuosos experimentos tuvimos la fortuna de descubrir que el efecto antidiabético de estos fármacos radicaba en la inhibición de la gluconeogénesis, lo que disminuía la síntesis *de novo* de glucosa y, por consiguiente, permitía reducir la hiperglucemia. De modo que a mi llegada a Oxford estaba familiarizado con el metabolismo glucídico, pero no con el lipídico, del que sólo poseía el conocimiento teórico necesario para impartir la docencia correspondiente. Sin embargo, los fondos bibliográficos de la Universidad de Oxford no consistían sólo en los codiciados códices de la Bodleian Library, sino también los necesarios para mí de la Radcliffe Scientific Library, en donde se depositan todas las revistas científicas relevantes. No fue difícil, por tanto, conseguir las fuentes en la que buscar los conocimientos; más arduo fue asimilarlos y ordenarlos. Pero un poco por necesidad y un mucho por patriotismo en demostrar el buen nivel de la ciencia española, conseguí a poner al día

mis conocimientos y pude aprovechar, así, la oportunidad que se me brindaba de trabajar codo con codo con una de las más altas personalidades científicas del momento.

Entenderán ustedes, Señoras y Señores académicos, Señoras y Señores, que a mi vuelta a España me sintiera lleno de confianza y dispuesto a abordar con éxito cualquier proyecto de investigación por modernas técnicas que requiriese. Sin embargo, como tantas veces, la propia Naturaleza me bajó de las nubes con una de sus frecuentes lecciones de humildad. El objeto de mi nuevo estudio, ya en tierras españolas, el recién nacido, no hacía más que sorprendernos por sus peculiaridades, por sus casi excentricidades bioquímicas. De hecho, el neonato parecía incumplir todos los dogmas metabólicos vigentes. Desde la supuesta inducción inmediata de la gluconeogénesis, que demostramos tardía y con un *tempo* característico, a la anaerobiosis postnatal transitoria, que resultó inexistente y, por tanto, no relacionada con la oclusión del *ductus arteriosus*, ni con la supuesta inmadurez de la maquinaria respiratoria. Desde el punto de vista endocrino, las mismas sorpresas: la insulinemia no parecía seguir a la glucemia y el glucagón no inducía la glucogenolisis. El secreto estaba en que el neonato guarda el glucagón para la tardía inducción de la gluconeogénesis, mientras que de las señales inmediatas se encarga la adrenalina, segregada tras la obliteración del cordón umbilical. Más sorpresas: la autofagia, un sistema de supervivencia extrema, se induce inmediatamente tras el nacimiento y es vital para la viabilidad del neonato, pues la deficiencia en *Atg5*, un gen esencial en el proceso autofágico, produce la muerte inmediata del recién nacido. Quién pudiera pensar que el recién nacido degrada sus propios hígado y corazón como fuente de aminoácidos esenciales. Sin embargo, la teleonomía de este hecho es clara: impedir a toda costa la interrupción del desarrollo de su sistema nervioso. Como ven, un ritmo bien diferente al de

alimentación/ayuno del adulto. Ni funcionamiento del ciclo glucosa/ácidos grasos de Garland, ni dictadura del par insulina/glucagón. En fin, una orquesta nueva en la que los mismos instrumentos utilizan diferentes *tempos*. E interpretando una sinfonía de introducción a la vida que se estrenará e inmediatamente será retirada del cartel, pero que de su correcta ejecución dependerá el resto de nuestra vida.

Pues bien, una vez recuperados de nuestra sorpresa inicial, y ahora sin los prejuicios derivados de los dogmas bioquímicos, abordamos el estudio de la bioquímica perinatal, poniendo un especial énfasis en los efectos de la prematuridad. De ellos derivaron los resultados que voy a resumir a continuación y que, en la edición escrita de este discurso, pueden conocer en detalle.

## INTRODUCCIÓN

### *El ácido láctico como sustrato metabólico del recién nacido*

Cuando iniciamos nuestro trabajo, la presencia de ácido láctico en la sangre del recién nacido era conocida como el índice más fiable de sufrimiento perinatal. De hecho, de su evolución postnatal podían pronosticarse las posibles secuelas neurológicas ocasionadas por el trauma hipóxico-isquémico. El valor clínico de este índice permanece inalterable hoy en día; lo que ha cambiado considerablemente es la interpretación bioquímica del fenómeno. Así, nuestros primeros resultados demostraron que el ácido láctico se acumula en la sangre del recién nacido, pero no sólo en situaciones patológicas, sino también en circunstancias normales, es decir, cuando se accede a la vida extrauterina en condiciones absolutamente fisiológicas. Pero aún más sorprendente: el ácido láctico que se ha acumulado en la sangre del feto durante el término de la gestación y primeros minutos después del nacimiento, se consume rápidamente, en un proceso de vital importancia en la adaptación a la vida extrauterina. De hecho, la hiperlactacidemia que se presenta en circunstancias patológicas es debida, principalmente, a la inhibición del consumo del ácido láctico, más que a su superproducción a través de la glucólisis anaerobia. La primera conclusión de estos resultados es que la etiopatogenia de la hiperlactacidemia no es tanto la acumulación del ácido láctico, como la inhibición de su propia utilización. Este hecho, lejos de ser un matiz bioquímico de puro interés académico, tiene una extraordinaria importancia. En efecto, si el

ácido láctico se consume en condiciones normales, se trata de un sustrato utilizado para el crecimiento de los tejidos neonatales en un período tan crítico como es el que sigue inmediatamente al nacimiento. Es más, si en situaciones patológicas el ácido láctico no se consume, los tejidos neonatales pueden verse privados de la energía que deriva de su catabolismo. Por lo tanto, al valor semiológico del ácido láctico hay que añadir ahora su valor metabólico, al constituirse en sustrato imprescindible para el desarrollo del neonato.

*El neonato consume ácido láctico sin convertirlo previamente en glucosa*

Cualquier estudiante de bioquímica sabe, sin embargo, que el ácido láctico es un excelente sustrato gluconeogénico, es decir, que puede transformarse en glucosa mediante un proceso que es muy activo cuando el suministro de glucosa está seriamente disminuido. Es más, la hipoglucemia es característica del recién nacido, lo que indica que, en estas circunstancias, las disponibilidades de glucosa están muy limitadas. Por consiguiente, todo parecía indicar, en un principio, que el ácido láctico se consumía inmediatamente tras el nacimiento, mediante su transformación en glucosa a través de la vía gluconeogénica. Sin embargo, esta hipótesis de trabajo fue *falsándose* paulatinamente, a la vista de los resultados obtenidos en nuestro propio laboratorio. En primer lugar, observamos que la actividad de las principales enzimas gluconeogénicas era demasiado baja como para dar cuenta del extraordinario consumo de ácido láctico observado en nuestros experimentos. Más tarde, demostramos que la síntesis de glucosa a partir de ácido láctico era prácticamente indetectable durante el período en el que el consumo de ácido láctico era más osten-



sible. Este hecho explicaba nuestros resultados previos, en los que no se observaba incorporación de ácido láctico en glucosa o glucógeno durante la utilización postnatal de ácido láctico. Precisamente estos últimos resultados abrieron la puerta definitiva a nuestra investigación, al demostrar que el ácido láctico tenía un destino metabólico muy diferente al de su transformación en glucosa. Demostramos, en efecto, que, en estas circunstancias, el ácido láctico se oxida mayoritariamente en el ciclo de Krebs, lo que indica claramente que el ácido láctico es un sustrato energético directo para los tejidos neonatales.

### *El ácido láctico se utiliza como sustrato energético y plástico*

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

único sustrato disponible inmediatamente tras el nacimiento, sirviendo de fuente de energía y esqueletos carbonados durante el período de máxima vulnerabilidad postnatal.

### *El cerebro utiliza ácido láctico como sustrato preferente*

La vulnerabilidad de los tejidos neonatales es máxima inmediatamente tras el nacimiento, puesto que, en estas circunstancias, el neonato tiene que mantener su actividad metabólica a costa de sus propias y escasas reservas. Sin embargo, el caso del cerebro es especialmente delicado dado que, durante este período, se llevan a cabo etapas decisivas en su desarrollo. No es necesario recordar que el desarrollo del cerebro está constituido por una serie de etapas estrictamente sincronizadas y secuenciadas, en las que ningún paso puede omitirse o retrasarse, so pena de causar secuelas irreversibles. Tal es la servidumbre de este extraordinario proceso, —en que las células proliferan y emigran, se diferencian y se relacionan molecularmente e, incluso, mueren—, en el curso del irreversible camino hacia la consecución de un tejido de extraordinaria complejidad y capacidad. Frente a los demás tejidos del neonato, que pueden adecuar el *tempo* de su desarrollo a la posible disponibilidad de sustratos metabólicos e incluso autodegradarse para suministrar aminoácidos, el cerebro debe continuar su desarrollo con independencia de la fluctuación del suministro de sustratos.

Se comprende, pues, nuestro interés por conocer si el ácido láctico era utilizado por el cerebro durante la etapa inmediatamente postnatal. Desde los primeros ensayos, nuestros resultados mostraron claramente que el ácido láctico es el sustrato más importante del cerebro en estas circunstancias, siendo, incluso, preferido a la glucosa y a los cuerpos cetónicos. Lo inesperado de este hecho nos obligó a comprobarlo en cortes

de cerebro incubados *in vitro*, células aisladas de cerebro y, más recientemente, en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos en cultivo primario. En apoyo del significado fisiológico de estos resultados, observamos que el ácido láctico inhibe la utilización de glucosa, lo que sugiere que el ácido láctico ocupa el lugar de la glucosa como sustrato metabólico universal, reservando, en estas circunstancias, la glucosa para destinos muy específicos, tales como la glicerogénesis, el ciclo de las pentosas fosfato o la síntesis de glicolípidos. De estos hechos se infiere que el ácido láctico mantiene el desarrollo del cerebro durante la etapa que sigue inmediatamente al nacimiento, siendo el principal sustrato para la proliferación y diferenciación de neuronas, astrocitos y oligodendrocitos.

Estos resultados fueron confirmados por el grupo de Fernandes, Berger y Smit en niños con el síndrome de von Gierke, en los que, mediante diferencias arteriovenosas, demostraron que el cerebro de estos recién nacidos utilizaba ácido láctico como único sustrato disponible. Estos resultados resolvieron la paradoja de cómo estos recién nacidos continúan el desarrollo de su sistema nervioso a pesar de sufrir hipoglucemias que, en otras circunstancias, serían incompatibles con la vida. De hecho, el ácido láctico producido como consecuencia del déficit de glucosa-6-fosfatasa, se aprovecha para suministrar energía y esqueletos carbonados para el cerebro en desarrollo. De esta manera nuestros resultados han contribuido al conocimiento de la etiopatogenia molecular de esta enfermedad que es, sin duda, la más frecuente de las glucogenosis.

### *Inhibición de la utilización de ácido láctico en el neonato prematuro*

Al ponerse de manifiesto la importancia del ácido láctico como sustrato del cerebro en desarrollo, otro hecho muy importante tomó carta de naturaleza. En efecto, si la utilización de ácido láctico es tan decisiva en el desarrollo cerebral, aquellas situaciones patológicas que cursen con hiperlactacidemia pueden resultar en secuelas irreversibles de origen neurológico. Nuestro interés se centró, pues, en el estudio de aquellas situaciones en que habíamos observado hiperlactacidemia, especialmente, en las de prematuridad, hipoxia, hipotermia o con “*ductus arteriosus* patente”.

La puesta a punto de un modelo experimental de prematuridad nos permitió comprobar que el neonato prematuro presenta altas concentraciones de ácido láctico en sangre, hecho que se acompaña de una clara resistencia a su utilización. Considerando nuestros resultados anteriores sobre el destino del ácido láctico, parecía claro que el cerebro del prematuro carecía de los precursores necesarios para su normal desarrollo. De hecho, este fenómeno podía constituir el principal handicap metabólico del recién nacido prematuro, puesto que indicaba que el nacido pretérmino está sometido a una situación de precariedad metabólica conducente, posiblemente, a daños irreparables en el cerebro. Por consiguiente, nos planteamos el estudio de este fenómeno, comenzando por la investigación del origen de la hiperlactacidemia.

Puesto que habíamos demostrado que el ácido láctico requería oxígeno para su total aprovechamiento, nuestra atención se centró en el estudio de las oxemias que el prematuro presenta en las horas siguientes al nacimiento. En efecto, la correlación existente entre la concentración de oxígeno y la de ácido láctico en sangre del recién nacido prematuro era extraordinariamente

significativa, confirmando el hecho de la asociación causa-efecto entre la hipoxia y la hiperlactacidemia del prematuro. Faltaba por conocer el origen de la hipoxia del prematuro. Dos posibilidades se nos presentaban como probables. La primera de ellas es la presencia del “*ductus arteriosus* patente”, que transitoriamente puede sufrir el recién nacido pretérmino. En efecto, un retraso en la obliteración del *ductus arteriosus* produce un déficit de la oxigenación de la sangre con el resultado de la hipoxia tisular concomitante.

Un delicado modelo experimental de “*ductus arteriosus* patente”, nos permitió descartar a éste como el origen de la hipoxia del prematuro, dado que el retraso en la oclusión del *ductus* no puede dar cuenta de la severa hipoxia que presenta el neonato prematuro durante el periodo postnatal temprano. Sin embargo, el déficit de surfactante, es decir, el déficit de este sofisticado componente lipoproteico que tapiza el lumen del alveolo pulmonar, parece directamente relacionado con la hipoxia. En efecto, el tratamiento de la madre con dexametasona, no solamente incrementa la concentración pulmonar de surfactante, sino que consigue remitir considerablemente la hipoxia. En definitiva, la hipoxia del recién nacido prematuro estaba causada por la disfunción del transporte de oxígeno que tiene lugar a través de las membranas pulmonares, lo que, finalmente, resulta en la hiperlactacidemia por inhibición del consumo de ácido láctico. Nuestros experimentos relativos al efecto de la dexametasona sobre la hipoxia postnatal del prematuro nos permitieron, además, constatar la existencia de una relación directa entre el contenido pulmonar de surfactante y la mortalidad postnatal. Se trata de una evidencia directa que señala a la hipoxia, y subsecuente hiperlactacidemia, como la etiología molecular de la morbi-mortalidad del prematuro.



## HOMEOSTASIS ENERGÉTICA PERINATAL

### *Preparación fetal "pre partum"*

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

Por esta razón, nos interesamos en el estudio del metabolismo pulmonar durante el periodo perinatal. Nuestros resultados pusieron de manifiesto que la síntesis de glucógeno pulmonar decrece muy significativamente durante los últimos días de la gestación, hasta ser casi imperceptible en las cercanías del parto. La caída de la síntesis de glucógeno se corresponde con la inducción de la glucogenolisis, que acaba con las reservas de glucógeno pulmonar días antes del nacimiento. Este hecho es concordante con la hipótesis de que el glucógeno pulmonar es el precursor de los fosfolípidos del surfactante. En efecto, durante este período, la lipogénesis *de novo* en el pulmón es creciente, alcanzándose un máximo durante el último día

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

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



La fiabilidad de nuestro método para la medida de la velocidad de la lipogénesis nos permitió aplicarlo al estudio de la lipogénesis cerebral. En efecto, la lipogénesis es muy activa en el cerebro durante el período perinatal. En este sentido, nuestros resultados pusieron de manifiesto que la lipogénesis cerebral es sustancial durante el último período de la gestación, no sufriendo cambios significativos en las cercanías del parto. Estos resultados sugieren que la síntesis de las estructuras cerebrales es tan importante que la lipogénesis en cerebro prosigue aún durante el último período de la gestación

La unidad materno-fetal muestra una sucesión de prioridades conforme avanza el crecimiento del *conceptus*. Así, durante la primera mitad de la gestación la madre utiliza el exceso calórico de su ingesta para acumular reservas en su propio tejido adiposo, con objeto de afrontar con éxito las futuras demandas del crecimiento fetal. Sin embargo, durante el segundo período de la gestación las prioridades se establecen cara al feto, dirigiendo el suministro de sustratos de acuerdo con las necesidades fetales. Sin embargo, dentro del propio feto se establecen, a su vez, prioridades dependiendo de la importancia y oportunidad de los procesos. La lipogénesis *de novo* en los tejidos fetales es un buen ejemplo de ello. En este sentido, nuestros resultados mostraron que existe una drástica disminución de la velocidad lipogénica en hígado fetal conforme se acerca el parto. Este hecho sugiere que el hígado se prepara para el parto puesto que, inmediatamente tras él, la lipogénesis será insignificante, dado que los lípidos se aportan ya sintetizados en la leche materna. Sin embargo, como hemos visto antes, la lipogénesis pulmonar crece durante este tiempo, lo que parece indicar que la importancia funcional de los fosfolípidos pulmonares obliga a continuar su síntesis hasta el momento del parto. Es más, la disminución de la lipogénesis hepática puede tener el objeto de reservar los sustratos lipogénicos para el desarrollo

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

Durante el período *prepartum*, el feto acomoda la dotación enzimática de sus tejidos a los procesos metabólicos que van a ser de inmediata utilización postnatal. Junto con los procesos metabólicos más generales, como son la glucogenolisis, lipolisis, etc., el feto se prepara teleonómicamente para otros procesos más específicos de la vida neonatal. El ejemplo más notable de estos últimos es el de la cetogénesis, cuyas enzimas se inducen durante los últimos momentos de la vida fetal, con objeto de preparar al neonato para la síntesis de cuerpos cetónicos que, como veremos más tarde, serán la principal fuente de energía del cerebro durante la lactancia. Otro ejemplo de la preparación del feto para la vida extrauterina es el caso de la preparación enzimática para la síntesis y utilización del ácido láctico. En este sentido, en el curso de nuestra investigación se hizo evidente que el consumo de ácido láctico constituye un hecho

fundamental en la supervivencia del recién nacido. Pues bien, dado que el consumo de ácido láctico durante el período postnatal está directamente relacionado con las concentraciones de oxígeno en sangre, consideramos necesario investigar los cambios ocurridos en la proporción de las isoenzimas de la lactato deshidrogenasa, con objeto de dilucidar la dotación de estas isoenzimas existente en el hígado fetal en el momento del nacimiento. Asimismo, pudimos correlacionar la proporción de las isoenzimas de la lactato deshidrogenasa con las concentraciones de oxígeno en sangre fetal. En este sentido, nuestros resultados pusieron de manifiesto que la proporción de la isoenzima tipo 4 aumenta hasta alcanzar un máximo en los últimos días de la gestación, disminuyendo después, en las cercanías del parto. El comportamiento de la isoenzima tipo 5, en estas circunstancias, es el inverso, demostrándose que ambas isoenzimas guardan relación con las concentraciones de oxígeno en sangre fetal. Por consiguiente, podemos concluir que el oxígeno induce la síntesis de las isoenzimas de la lactato deshidrogenasa más adecuadas para el consumo de ácido láctico, disminuyendo las responsables de su síntesis. Por otro lado, estos resultados son la primera prueba realizada *in vivo* que confirma la hipótesis de Kaplan sobre la regulación de las isoenzimas de la lactato deshidrogenasa por la concentración tisular de oxígeno. La hipótesis prevé la existencia de una lactato deshidrogenasa específica de cada tejido, de acuerdo con las disponibilidades de oxígeno del propio tejido. Nuestros resultados no sólo confirman la hipótesis, sino que, además, demuestran que la concentración de las isoenzimas está correlacionada directa o inversamente con la cantidad de oxígeno disponible.

Durante el último período de la gestación todos los tejidos fetales acumulan una considerable cantidad de glucógeno. Así, no sólo acumulan glucógeno aquellos tejidos que durante la vida adulta poseen un metabolismo del glucógeno muy activo,

tales como el músculo y el hígado, sino incluso lo hacen tejidos tan transitorios como la placenta. Sin embargo, las dos principales reservas de glucógeno a tener en cuenta son las del músculo y las del hígado. En este sentido, las reservas del glucógeno muscular en el momento del nacimiento son similares o muy superiores (3 veces en el caso del hombre) a las existentes en el adulto. Más notable es el caso del corazón de feto humano, que posee 10 veces más glucógeno que el del adulto. Mucho más importante desde el punto de vista metabólico es el acúmulo de glucógeno en hígado, pues al contrario del acumulado en músculo, que sólo puede ser utilizado *in situ*, el glucógeno hepático está destinado a suministrar glucosa a todos los tejidos a través del torrente circulatorio. El glucógeno se acumula en el hígado fetal de rata durante el último período de la gestación, hasta alcanzar concentraciones dobles de las observadas en el hígado del adulto alimentado. Como veremos más tarde, el neonato prematuro no consigue alcanzar en el momento del nacimiento más que un 40% de las reservas totales de glucógeno, enfrentándose a la vida extrauterina con escasísimas reservas energéticas (véase más adelante).

### *Adaptación del metabolismo materno al desarrollo del "conceptus"*

Puesto que la gestante aporta la totalidad de los sustratos requeridos por el feto, es evidente que el metabolismo materno debe adaptarse considerablemente para poder aportar a los nuevos tejidos del *conceptus* los sustratos necesarios para su crecimiento. Aunque nuestro trabajo se ha centrado en el propio recién nacido, hemos estudiado ciertos aspectos de la adaptación del metabolismo de la gestante a su nueva situación, pues sin estos datos resultaría imposible enunciar cualquier hipótesis acerca de lo que pensamos ocurre en los tejidos fetales. Es

más, tenemos que considerar el metabolismo materno como promotor del crecimiento fetal y no como un mero acompañante que soporta la presencia de un cuerpo extraño. En este sentido, la utilización del agua tritiada como marcador lipogénico nos ha permitido, no sólo la utilización de un trazador que pasa libremente la barrera placentaria distribuyéndose uniformemente en los compartimentos materno y fetal, sino, muy decisivamente, la oportunidad de medir la lipogénesis fetal y materna sincrónicamente, es decir, sin retrasos o desfases debidos a la distribución de los sustratos.

En este sentido, la lipogénesis hepática materna decrece durante los últimos días de la gestación, incluso por debajo de los niveles observados en ratas no gestantes. Estos resultados indican que el hígado materno restringe sus necesidades de glucosa para aportar al feto toda la glucosa disponible. Asimismo, la disminución de la lipogénesis hepática materna coincide con la caída de los niveles plasmáticos de insulina. Este hecho está a favor de la hipótesis de que la lipogénesis hepática se regula durante la gestación por los niveles de insulina circulante. Sin embargo, nuestros resultados sugieren que existen otros factores hormonales que juegan un papel importante en la regulación de la lipogénesis hepática materna en estas circunstancias. De hecho, la prolactina aumenta durante el último período de la gestación, lo que sugiere que esta hormona juega un papel importante en la regulación de la lipogénesis hepática materna. Tampoco se descarta la contribución del 17-beta-estradiol y de la progesterona en la regulación de la lipogénesis materna. Sea como fuere, la disminución de la lipogénesis hepática tiene un significado bioquímico evidente. En efecto, la lipogénesis hepática materna cesa para aumentar las disponibilidades fetales de sustratos. Una vez terminado el parto, sin embargo, el hígado materno eleva de nuevo su capacidad lipogénica, con objeto de enviar a la glándula mamaria

los lípidos que, junto con los sintetizados *in situ*, formarán el componente mayoritario de la leche.

Por el contrario, el tejido adiposo materno aumenta progresivamente su capacidad lipogénica durante el último período de la gestación y primer día de puerperio. De nuevo este tejido materno aumenta su capacidad de almacenar lípidos, a fin de adquirir las reservas adecuadas que permitan el suministro continuo de leche, aun en circunstancias de ayuno o de ingesta restringida. De hecho, la síntesis de lípidos sanguíneos sólo decrece el último día de gestación, recuperando los altos valores observados durante el primer día *post partum*. En este sentido, durante el último período de la gestación aumentan los ácidos grasos circulantes en la sangre de la gestante, lo que tiene por objeto suministrar a los tejidos maternos la energía necesaria para suplir el déficit producido por la fuerte demanda fetal. Sin embargo, el aumento de la concentración de ácidos grasos no se acompaña, al contrario de lo esperado, de un aumento paralelo de la concentración plasmática de cuerpos cetónicos. Este hecho se explica por el consumo exacerbado de cuerpos cetónicos por algunos de los tejidos fetales. En este sentido, nuestros resultados indican que la capacidad cetogénica del hígado de la gestante está considerablemente aumentada durante el último período de la gestación. El aumento de la síntesis de cuerpos cetónicos es ostensible, tanto si se utiliza ácido oleico como si se utiliza ácido octanoico como sustrato cetogénico, lo que sugiere que la inducción de la cetogénesis es de tipo general y no exclusivamente debida al aumento de la actividad de la palmitil-carnitina transferasa. Sea como fuere, nuestros resultados indican claramente que el hígado de la gestante produce más cuerpos cetónicos durante el último período de la gestación. Por consiguiente, la presencia de concentraciones normales de cuerpos cetónicos en sangre

materna indica que el consumo de cuerpos cetónicos por los tejidos fetales es muy elevado en estas circunstancias.

Durante el último periodo de la gestación, el feto experimenta un incremento ponderal de, aproximadamente, un tercio de su peso. Este hecho es un índice del enorme esfuerzo materno por mantener un suministro constante y elevado de nutrientes al feto. A excepción de los esqueletos carbonados de los aminoácidos, el resto de los carbonos que constituyen la estructura fetal proceden de la glucosa que envía la madre al feto vía transplacentaria. No es de extrañar, pues, que la gestante presente durante el último día de la gestación menores reservas de glucógeno, acompañadas de una clara hipoglucemia. Sin embargo, los sustratos gluconeogénicos más importantes, es decir, el ácido láctico y la alanina, están elevados en el plasma de la gestante durante este período. Por consiguiente, todos estos datos parecían sugerir que la gluconeogénesis materna podría estar muy aumentada, aunque las demandas fetales impedirían la recuperación de la glucemia materna. En apoyo de esta hipótesis, nuestros resultados indican que las principales enzimas de la gluconeogénesis, tales como la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y la fructosa-1,6-bisfosfatasa, están muy aumentadas al final de la gestación. En el caso de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, tanto la enzima de hígado como la de riñón aumentan muy considerablemente, lo que pone de manifiesto que el proceso gluconeogénico en la gestante ha adquirido una magnitud extraordinaria, sólo comparable al ayuno más prolongado.

Estos datos, si bien indicadores de la existencia de una activa gluconeogénesis en las gestantes, resultaban insuficientes sin la medida de la capacidad gluconeogénica real. Sin embargo, la medida de la gluconeogénesis *in vivo* en un sistema como la gestante, compuesto por, al menos, dos compartimentos, resultaba extremadamente delicado. En este sentido, junto a

medidas muy cuidadosas, los resultados tuvieron que ser calculados mediante los métodos más fiables en cuanto a optimización de las medidas. Gracias a la utilización de estos métodos, podemos afirmar que la gestante posee, durante el último período de la gestación, una capacidad gluconeogénica doble de la existente en la rata no gestante, mostrando incluso, un recambio de ácido láctico casi cinco veces mayor. De hecho, de acuerdo con estos resultados, la madre suministra más de la mitad de la glucosa requerida por el feto, gracias a la inducción de la gluconeogénesis, mientras que la mitad restante podría ser aportada por la transferencia directa de la glucosa procedente de la ingesta.

Durante la gestación, el comportamiento metabólico del *conceptus* es de auténtico parasitismo. De hecho, el feto recibe de la madre el oxígeno y todos los sustratos necesarios para su desarrollo. Estos últimos son suministrados por la madre en la forma más elaborada posible, de manera que requieran una transformación mínima. Este hecho condiciona las características de los nutrientes restringiéndolos, principalmente, a glucosa y aminoácidos. Es bien conocido que la transferencia de oxígeno a nivel placentario es discreta, manteniéndose muy bajos niveles de oxígeno en sangre fetal. Sin embargo, la alta afinidad de la hemoglobina fetal asegura el suministro de oxígeno a los tejidos fetales, lo que da origen a un alto recambio de oxígeno a pesar de las bajas oxemias detectadas. En este sentido, el viejo concepto de la anaerobiosis fetal debe ser descartado a la luz de los estudios recientemente llevados a cabo. Así, aunque el feto requiere poca energía para el ejercicio muscular, termogénesis, etc., su metabolismo oxidativo es muy alto. Este dato contrasta con la inmadurez de la mitocondria del hígado fetal en el momento del nacimiento. Sin embargo, las concentraciones de oxígeno en sangre fetal caen drásticamente en las proximidades del parto. Este hecho, junto con la caída



de la concentración de nucleótidos adenílicos, y muy especialmente del ATP, durante los dos últimos días de la gestación, podrían explicar *per se* la baja actividad respiratoria de la mitocondria hepática en el momento del nacimiento.

La glucosa constituye el principal sustrato fetal, utilizándose tanto como fuente de energía como de esqueletos carbonados para la síntesis de estructuras celulares. De hecho, con excepción de los carbonos procedentes de los aminoácidos, todos los carbonos restantes de las estructuras fetales proceden de la glucosa materna. Asimismo, la glucosa es la principal fuente de energía del feto, que la consume tanto por vía anaerobia como mediante la oxidación terminal a través del ciclo tricarbóxico. Por consiguiente, no es de extrañar que la madre adapte su dotación metabólica para producir la mayor cantidad de glucosa posible. Como hemos visto anteriormente, la gluconeogénesis hepática y renal de la gestante se ponen en funcionamiento para suministrar glucosa al feto.

Otro posible sustrato fetal muy discutido es el ácido láctico, que parece ser utilizado por el feto de cordero, mientras que es producido en exceso por el feto humano y el de rata. Sin embargo, aún en este último caso, nuestros resultados indican que no puede descartarse la posibilidad de que el feto utilice ácido láctico como fuente de energía y esqueletos carbonados (véase más adelante).

Los requerimientos fetales de aminoácidos son grandes, ya que la proliferación celular exige una alta velocidad de síntesis de proteínas. Sin embargo, el feto toma de la madre mucha mayor cantidad de aminoácidos de la necesaria para la síntesis de proteínas, lo que sugiere que el feto utiliza también los aminoácidos como fuente de energía. La mayor parte de los aminoácidos proceden de la madre, siendo transportados vía transplacentaria mediante transporte activo. Sin embargo, algunos

aminoácidos, como el glutamato y el aspartato, no proceden de la madre, por lo que resulta evidente que son sintetizados por el propio feto. En este sentido, el feto posee la dotación enzimática necesaria para la transformación de la mayor parte de los aminoácidos no esenciales. Recientemente se ha demostrado, incluso, que el feto humano produce considerables cantidades de alanina, además de la que toma de la sangre materna. Por otro lado, el catabolismo de aminoácidos en el feto es muy activo, dado que al final de la gestación puede apreciarse la existencia de una moderada ureogénesis. En este sentido, nuestros resultados indican que el feto produce moderadas cantidades de urea, que se acumula en sangre fetal y líquido amniótico.

La importancia de los lípidos y, en especial, de los ácidos grasos como sustratos fetales, está muy discutida. Sin embargo, parece evidente que los ácidos grasos cruzan la placenta en la especie humana. Al parecer, los ácidos grasos que cruzan la placenta se incorporan a triglicéridos hepáticos antes de ser transportados a los tejidos a la forma de lipoproteínas. Sea como fuere, la concentración de triglicéridos en sangre fetal es aproximadamente tres veces menor que en la del adulto y no se descarta la posibilidad de que procedan de la síntesis *de novo* hepática, que sólo cae en las proximidades del parto. Por otro lado, se ha sugerido que dos tercios de los lípidos que cruzan la placenta proceden de las VLDL maternas, cuyos triglicéridos podrían ser hidrolizados por la lipoproteína lípasa placentaria. En este sentido, nuestros resultados demuestran claramente la existencia de una considerable actividad de la lipogénesis *de novo* en placenta. Dado que nuestro método para medir la actividad lipogénica mide exclusivamente la lipogénesis *de novo* y no la captación de los triglicéridos sanguíneos, nuestros resultados indican que, independientemente del posible trasiego de triglicéridos de la sangre materna a la fetal,

la placenta sintetiza sus propios lípidos. Por otro lado, puesto que esta síntesis de lípidos la realiza la placenta durante el último período de la gestación, es decir, cuando las estructuras placentarias están definitivamente establecidas, estos resultados parecen indicar que la síntesis de lípidos *de novo*, observada en nuestros experimentos, tiene una clara misión *pro foetus*. Por otro lado, la madre envía al feto cuerpos cetónicos, que sirven de sustratos fetales, especialmente en circunstancias excepcionales tales como el ayuno materno.

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

Para el estudio del metabolismo fetal resulta de gran interés modificar el metabolismo materno mediante alteraciones de alguno, o algunos, de los factores hormonales o nutricionales. El estudio de la respuesta a tales modificaciones puede arrojar una luz considerable en el entendimiento de las pautas metabólicas seguidas por los seres vivos. En este sentido, hemos sometido a la gestante a tres tratamientos, fundamentalmente. El primero es relativamente sencillo, pero muy ilustrativo de la regulación del metabolismo; nos referimos al ayuno. El segundo es muy complicado desde el punto de vista metodológico pero de una gran utilidad clínica; es decir, la diabetes materna. Por último, el tratamiento materno con corticoides es un método habitual en la clínica como preventivo de la patología asociada a la prematuridad. Estos tratamientos nos han ayudado a conocer el metabolismo del feto y de la gestante, a la vez que han contribuido a mejorar nuestros conocimientos acerca de los efectos primarios y secundarios ejercidos por estos tratamientos.

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

La diabetes experimental causada por administración de estreptozotocina, al igual que la diabetes mellitus esporádica, se caracteriza por la presencia de hiperglucemia e hipoinsulinemia acompañadas de cetosis. En el caso de la diabetes de la gestante, la hiperglucemia materna se refleja en una hiperglucemia fetal permanente. Por esta razón hemos utilizado gestantes diabéticas por tratamiento con estreptozotocina, con objeto de evaluar la influencia del aumento de la disponibilidad de glucosa sobre la lipogénesis “de novo” fetal. Sin embargo, la hiperglucemia fetal, provocada por la diabetes no controlada de la gestante, no afecta a la velocidad lipogénica del hígado y pulmón fetales. Estos resultados indican que otros factores, además de la disponibilidad de glucosa, son responsables de la regulación de la lipogénesis “de novo” en los tejidos fetales. En este sentido, hay que hacer notar que los niveles de insulina

fetal son normales en estas circunstancias, lo que, una vez más, señalaría a la insulina como la hormona reguladora de la lipogénesis en los tejidos fetales. En este sentido, con objeto de dilucidar si la ausencia de efecto de la diabetes materna sobre la lipogénesis hepática y pulmonar del feto se debía a la interferencia de algunos factores no controlados de la diabetes y no a la falta de efecto de la hiperglucemia fetal concomitante, decidimos estudiar los efectos directos de la glucosa mediante intubación intragástrica de gestantes normales con altas dosis de glucosa pura. Pues bien, la administración de glucosa no afectó a la lipogénesis de los tejidos maternos ni del pulmón fetal. Sin embargo, este tratamiento disminuye significativamente la lipogénesis del hígado del feto. Este resultado, aparentemente paradójico, puede explicarse si aceptamos que el mecanismo de regulación del metabolismo del glucógeno que se observa en el adulto sea operativo durante el período fetal tardío, encauzando la glucosa hacia la síntesis de glucógeno en detrimento de la lipogénesis.

Es bien conocido que los glucocorticoides se utilizan para acelerar la maduración fetal en circunstancias en que se teme un parto prematuro. Por esta razón, hemos querido estudiar los efectos metabólicos de los glucocorticoides en el desarrollo fetal. Así, el tratamiento con corticoides acelera muy sensiblemente la disminución de la velocidad lipogénica del hígado del feto, indicando que el aumento de la síntesis de glucógeno producido por los glucocorticoides disminuye las disponibilidades de sustrato para la lipogénesis. Asimismo, estos resultados indican que la glucosa materna es el principal sustrato de la lipogénesis fetal, de tal manera que, al ser requerida por la síntesis de glucógeno, se priva a la lipogénesis de su principal precursor. Por otro lado, el tratamiento con glucocorticoides aumenta la concentración de fosfolípidos del surfactante pulmonar, lo que parece indicar que los glucocorticoides mejoran las

propiedades tensioactivas del surfactante (ver más adelante). Asimismo, el tratamiento con glucocorticoides no inhibe la glucogenolisis pulmonar, permitiendo el suministro de la principal fuente de esqueletos carbonados para la síntesis de los fosfolípidos del surfactante.

*La prelactancia. Un periodo de alto riesgo para el recién nacido*

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

Por otro lado, la hipoxia que sufre el neonato prematuro como consecuencia de su inmadurez pulmonar, inhibe la utilización de ácido láctico, lo que supone un importante hándicap metabólico para el recién nacido prematuro. En efecto, la inhibición de la utilización del ácido láctico no sólo promueve la persistencia de la acidosis sino que, aún más importante, priva al cerebro de su más importante sustrato metabólico durante este período. En efecto, nuestros resultados indican que el ácido láctico es el sustrato más importante del cerebro neonatal en el periodo que sigue al parto. Asimismo, la hipoxia inhibe la utilización de ácido láctico, lo que sitúa al cerebro del neonato prematuro en una situación de precariedad energética. Por otro lado, parte del ácido láctico se utiliza en la síntesis de las estructuras cerebrales, lo que parece indicar que la inhibición de la utilización de ácido láctico observado en el neonato prematuro puede conducir a disfunciones cerebrales importantes.

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

pone en funcionamiento todos y cada uno de los procesos metabólicos preelaborados durante el *pre partum*, consiguiendo, con éxito, adaptarse a la vida extrauterina. En efecto, inmediatamente tras el parto, el glucógeno hepático, que se había acumulado en grandes cantidades, se degrada masivamente, suministrando a los tejidos neonatales el principal sustrato metabólico, es decir, la glucosa. Las señales hormonales que dirigen este extraordinario cambio, es decir, el de la inducción de la glucogenolisis, no están aclaradas en todos sus extremos. Sin embargo, parece probable que la obliteración del cordón umbilical es la espoleta de este complicado proceso. En efecto, la obliteración del cordón umbilical provoca el aumento de la presión sanguínea como consecuencia de la disminución de la resistencia periférica. El aumento de la presión sanguínea es detectado por los barorreceptores fetales, que ordenan la secreción de catecolaminas. Por último, estas hormonas provocan, a nivel pancreático, la secreción de glucagón y la inhibición de la de insulina. El resultado es la caída drástica de la razón insulina/glucagón y la subsecuente glucogenolisis. Llama la atención, sin embargo, que, a pesar de la existencia de una fortísima glucogenolisis, las concentraciones normales de glucosa en sangre no se alcancen hasta transcurridos dos o tres días de vida extrauterina. Este hecho pone de manifiesto que el gasto de glucosa que tiene lugar inmediatamente tras el nacimiento es tan intenso, que no permite la recuperación de la glucemia hasta que, pasado el tiempo, tenga lugar la inducción de la gluconeogénesis. En este sentido, hemos investigado los principales factores responsables de la inducción postnatal de la glucogenolisis. Así, la glucogenolisis hepática se induce inmediatamente tras el nacimiento para suministrar glucosa a los tejidos neonatales, faltos de ella como consecuencia de la interrupción del suministro materno. Es más, en tanto no se inicie la lactancia, el neonato deberá sobrevivir con sus propias reservas



y, aun durante la lactancia, estará obligado a sintetizar glucosa *de novo* (gluconeogénesis), dada la escasez de carbohidratos en la leche materna. Por consiguiente, la inducción de la glucogenolisis hepática (única fuente de glucosa durante la prelactancia) es un proceso cuidadosamente regulado, pues de su correcto funcionamiento depende la supervivencia del recién nacido. En este sentido, nuestros resultados ponen de manifiesto que el páncreas endocrino neonatal, respondiendo a estímulos aún no dilucidados, responde a la exposición extrauterina con el aumento de la secreción de glucagón y la caída drástica de las concentraciones plasmáticas de insulina. Estos hechos son los responsables de la inducción de la glucogenolisis, puesto que la administración de glucosa inhibe la secreción de glucagón, así como del aclaramiento postnatal de la insulina, a la vez que suprime la inducción de la glucogenolisis. Más adelante veremos cómo la falta de estas señales en el neonato prematuro disminuye las disponibilidades de glucosa durante la prelactancia.

En estas circunstancias debería funcionar el ciclo glucosa/ácidos grasos, de manera que el tejido adiposo liberara ácidos grasos como sustratos alternativos de la glucosa. En efecto, inmediatamente tras el nacimiento la concentración de ácidos grasos se eleva extraordinariamente en sangre, lo que sugiere que los ácidos grasos plasmáticos están presentes y sustituyen a la glucosa en todos aquellos tejidos capaces de utilizarlos. En este sentido, la mayoría de los tejidos así lo hacen, utilizando esta excelente fuente de energía que se les ofrece. Sin embargo, aquellos tejidos que requieren exclusivamente glucosa, —al carecer de la dotación enzimática necesaria para la oxidación de ácidos grasos—, se ven obligados a utilizar la escasa glucosa disponible. Así, a pesar de la intensa glucogenolisis postnatal, la recuperación de la glucemia ocurre tardíamente, lo que sugiere que otros procesos, tales como la gluconeogénesis, podrían ser los responsables del mantenimiento de la glucemia

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

### *Homeostasis energética del cerebro durante el periodo perinatal*

Los tejidos neonatales requieren, durante la lactancia, no sólo energía para su supervivencia como en el caso del adulto sino, muy especialmente, esqueletos carbonados para la síntesis de las estructuras de sus tejidos en desarrollo. En este sentido, destaca muy notablemente el cerebro, cuyo desarrollo postnatal exige el suministro constante de los carbonos que componen las estructuras celulares de neuronas, astrocitos, oligodendrocitos, etc. Por consiguiente, es necesario recurrir a otros sustratos, que aunque esporádicos durante la vida adulta, van a cumplir un papel primordial durante la vida neonatal. Nos referimos a los cuerpos cetónicos que, durante la lactancia, van a ser los sustratos fundamentales para el desarrollo postnatal del cerebro. En este sentido, el neonato de rata pone en funcionamiento la cetogénesis inmediatamente tras el nacimiento, transformando masivamente en cuerpos cetónicos los ácidos grasos plasmáticos. Por consiguiente, los cuerpos cetónicos aumentan en sangre inmediatamente tras el parto, manteniéndose en concentraciones muy elevadas durante toda la lactancia. En este sentido, el cerebro del neonato está

perfectamente preparado para la utilización de cuerpos cetónicos, dado que las enzimas necesarias están muy activas durante toda la lactancia. El cerebro del neonato utiliza los cuerpos cetónicos no solamente como fuente de energía, sino también como fuente de los esqueletos carbonados necesarios para su crecimiento y desarrollo. Por consiguiente, parte del acetyl-CoA resultado de la lisis mitocondrial del acetoacetato, debe destinarse a la síntesis de lípidos. Sin embargo, dado que la maquinaria lipogénica es citoplasmática, el acetyl-CoA destinado a este fin debe salir de la mitocondria en la única forma posible, es decir, en forma de citrato. Sin embargo, el transporte de acetyl-CoA en forma de citrato es un proceso que consume energía, dado que la citrato liasa requiere la hidrólisis de una molécula de ATP por molécula de acetyl-CoA liberado. Pues bien, para evitar este considerable dispendio de energía, el cerebro del neonato posee una enzima exclusiva para este momento: la acetoacetyl-CoA sintetasa. Esta enzima cataliza la conversión directa de acetoacetato en acetoacetyl-CoA en el propio citoplasma, sin necesitar, por consiguiente, el concurso de las enzimas mitocondriales. Por otro lado, la reacción catalizada por la acetoacetyl-CoA sintetasa requiere un ATP por acetoacetyl-CoA sintetizado, lo que supone la mitad de gasto de ATP que en el caso de la vía de la citrato liasa, puesto que esta última requiere dos moléculas de ATP por cada molécula de acetoacetyl-CoA sintetizado. Es importante destacar que la enzima que permite este considerable ahorro de energía, es decir, la acetoacetyl-CoA sintetasa, no existe en ningún otro tejido diferente del cerebro y en éste desaparece durante la vida adulta. Este hecho indica claramente que la presencia de esta enzima en el cerebro neonatal tiene la misión, exclusiva y transitoria, de servir de camino para la síntesis de las estructuras cerebrales a partir de los cuerpos cetónicos plasmáticos.

Sin embargo, si observamos la evolución de la concentración plasmática de cuerpos cetónicos en el niño recién nacido, podemos apreciar que existe un largo período, inmediatamente tras el parto, en que la concentración de cuerpos cetónicos apenas aumenta significativamente. Así, la aparición de ácidos grasos en sangre no se acompaña del aumento de la concentración de cuerpos cetónicos, lo que se explica por el hecho de que el hígado neonatal carece de carnitina, un cofactor esencial para el transporte de los ácidos grasos al interior de la mitocondria. Es bien sabido que el transporte de los ácidos grasos al interior de la mitocondria es imprescindible para su transformación en cuerpos cetónicos. Por consiguiente, sólo cuando la leche materna suministre la carnitina necesaria, la oxidación de los ácidos grasos será finalmente posible y, consecuentemente, la cetogénesis.

Como vemos, durante el período postnatal inmediato existe un retraso en la sustitución de la glucosa por los ácidos grasos y/o cuerpos cetónicos. Por consiguiente, el lapso de tiempo transcurrido entre el nacimiento y el comienzo de la lactancia se caracteriza por el ayuno total del neonato, que tiene que sobrevivir a costa de sus propias reservas. A este período de tiempo se le conoce con el nombre de ayuno postnatal o prelacancia. Se entiende ahora la importancia de la minuciosa preparación del feto durante el último período de la gestación. Es evidente que tiene como objeto la de preparar al feto para esta “esperada” situación de ayuno postnatal.

No conocemos las razones que obligan al ayuno postnatal aunque, posiblemente, se trata de la existencia de una clara incompatibilidad entre la succión de la leche y la aún imperfecta ventilación pulmonar. Además, la lactogénesis materna se retrasa debido a que la transferencia de las prioridades maternas de la placenta a la glándula mamaria impone un lapso de tiempo inevitable. Sea como fuere, el neonato sufre un importante

ayuno durante las primeras horas de vida extrauterina, ayuno ciertamente anunciado por la preparación *pre partum* del feto. Es más, la supervivencia postnatal depende de este crítico período. De hecho, la morbi-mortalidad postnatal tiene su origen, en la mayor parte de los casos, en el período perinatal. Por consiguiente, la supervivencia postnatal, así como el normal funcionamiento de sus tejidos y órganos, depende de la correcta adaptación a la vida extrauterina inmediata.

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

En efecto, durante el último período de la gestación se observa un acúmulo sustancial de ácido láctico en la sangre fetal, alcanzando en el momento del nacimiento concentraciones diez veces superiores a las normales en el individuo adulto. Sin embargo, inmediatamente después del nacimiento el ácido láctico se consume rápidamente, de tal manera que la mayor parte del ácido láctico acumulado en la sangre fetal se

consume precisamente durante la prelactancia. Este hecho sugiere que el ácido láctico es un sustrato vital para la homeostasis energética del neonato inmediatamente tras el nacimiento. Asimismo, su alta concentración en sangre en el momento del nacimiento, junto con su alto valor energético, sugieren que el ácido láctico es un sustrato cuantitativamente importante durante este periodo. Pero el verdadero significado fisiológico del ácido láctico como sustrato energético neonatal se hizo evidente cuando descubrimos que, en estas circunstancias, el ácido láctico se consume por vía oxidativa a través del ciclo tricarbóxico. Es decir, durante la prelactancia el ácido láctico se utiliza mayoritariamente como sustrato energético y no como fuente de esqueletos carbonados para la gluconeogénesis. Por lo tanto, se puede afirmar que el ácido láctico es un sustrato energético que sustituye a la glucosa en un momento en que las disponibilidades de glucosa están muy reducidas. Por otro lado, el consumo de ácido láctico no requiere, probablemente, señales hormonales condicionadas al parto. De hecho, nuestros datos experimentales parecen indicar claramente que es el oxígeno el único responsable del inicio y mantenimiento del consumo de ácido láctico en estas circunstancias. Por consiguiente, la sola circunstancia de la presencia de oxígeno se convierte en la orden para el consumo de este importante sustrato. De hecho, sólo la prematuridad y la hipoxemia concomitante impiden la utilización de ácido láctico. Este es el caso de los neonatos pretérmino, cuya inmadurez pulmonar no les permite una transferencia correcta de oxígeno a través de la membrana alveolar, lo que se traduce en una menor disponibilidad de oxígeno para los tejidos neonatales y en la inhibición de la utilización de ácido láctico (véase más adelante).

Por consiguiente, el ácido láctico es un importante sustrato energético que se utiliza en un período neonatal crítico caracterizado por la escasez de recursos energéticos. Pues bien, los

datos de que disponemos indican claramente que el principal consumidor de ácido láctico durante el período postnatal inmediato es el cerebro del neonato. De hecho, cortes de cerebro de neonato o neuronas o astrocitos incubados *in vitro* utilizan ácido láctico, mostrando las máximas velocidades de oxidación a las concentraciones fisiológicas de ácido láctico en sangre. Asimismo, la lipogénesis *de novo* a partir de ácido láctico es también muy alta en estas circunstancias, lo que indica claramente que el ácido láctico es un importante sustrato para el cerebro durante el período postnatal inmediato. Es más, cuando se compara la utilización de ácido láctico con la de otros posibles sustratos cerebrales sorprende comprobar que la oxidación de ácido láctico es diez veces superior a la de glucosa y cuatro a la de los cuerpos cetónicos. Por otro lado, la lipogénesis *de novo* a partir de ácido láctico es dos veces superior a la observada a partir de glucosa y cinco veces superior a la observada a partir de cuerpos cetónicos. Estos resultados indican claramente que el ácido láctico es el sustrato más importante para el cerebro neonatal en estas circunstancias, superando a la glucosa y a los cuerpos cetónicos como fuente de energía y esqueletos carbonados.

El papel del ácido láctico como principal sustrato cerebral durante la prelactancia viene corroborado por nuestros resultados sobre la competencia del ácido láctico con sus dos principales sustratos alternativos, es decir, la glucosa y los cuerpos cetónicos. En este sentido, la presencia de ácido láctico inhibe fuertemente la utilización de glucosa, tanto en su oxidación terminal a  $\text{CO}_2$  como, muy significativamente, en su transformación en lípidos cerebrales. Por consiguiente, estos resultados sugieren que el cerebro neonatal prefiere el ácido láctico a la glucosa puesto que, a la vez que se utiliza un sustrato fuertemente energético y casi exclusivamente cerebral, se contribuye muy decisivamente a la remisión de la hiperlactacidemia

que subsecuentemente mantiene la acidosis metabólica. Aún más importante, la utilización de ácido láctico en vez de glucosa, reserva a ésta para aquellos tejidos (hematíes, tejidos oculares, gónadas, etc) que se sustentan de glucosa como único sustrato metabólico. Por otro lado, nuestros resultados indican que la presencia de glucosa no afecta significativamente a la utilización de ácido láctico, lo que corrobora la idea de que en presencia de ambos sustratos el cerebro neonatal utiliza ácido láctico, reservando la glucosa para otros tejidos cuyo “menú” de sustratos energéticos es muy restringido.

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

En resumen, el ácido láctico es un excelente sustrato metabólico para el cerebro y otros tejidos neonatales durante la vida extrauterina inmediata. El cerebro neonatal utiliza ácido láctico no solamente como sustrato energético, sino también como fuente de carbonos para la síntesis de las estructuras cerebrales. El ácido láctico constituye, pues, el sustrato puente entre



la glucosa materna del período fetal y los cuerpos cetónicos producto de la oxidación de los ácidos grasos lácteos. Gracias al ácido láctico, el cerebro puede desarrollarse aun en una situación tan crítica como es la prelactancia.



## VULNERABILIDAD BIOQUÍMICA DEL NEONATO PREMATURO

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

### *Inmadurez endocrina del neonato prematuro*

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

cuenta estas consideraciones, es lógico esperar que en la transición a la vida extrauterina ocurran cambios drásticos en la razón insulina/glucagón, con objeto de adecuar el metabolismo a la nueva situación del entorno. En efecto, inmediatamente tras el nacimiento la insulina, que permanecía en concentraciones muy altas en la sangre del feto, comienza su caída paulatina hasta casi su total aclaramiento, hecho que tiene lugar dentro de la primera hora de vida extrauterina. Por el contrario, el glucagón manifiesta un súbito aumento, alcanzando muy altas concentraciones durante las primeras horas de vida extrauterina. Por consiguiente, en un corto período de tiempo la razón insulina/glucagón experimenta una subida extraordinaria. Naturalmente, los cambios metabólicos no se hacen esperar, la glucogenolisis hepática y la muscular se inducen y, más tarde, lo hace la gluconeogénesis (véase anteriormente). Sin embargo, ninguno de estos cambios tienen lugar en el prematuro con la rapidez necesaria. Así, el aclaramiento de la insulina fetal se retrasa considerablemente en el neonato prematuro, de tal manera que sus concentraciones son aún altas dos horas después del nacimiento. Por otro lado, la secreción postnatal de glucagón es mínima en el neonato prematuro, al menos por lo que se refiere a las dos primeras horas de vida extrauterina. Por consiguiente, la caída de la razón insulina/glucagón que tiene lugar en el neonato maduro se reduce considerablemente en el prematuro, lo que, como veremos, influirá decisivamente en el aumento de la vulnerabilidad metabólica del recién nacido prematuro.

### *Inmadurez metabólica del neonato prematuro*

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

dependen estrictamente de la glucosa para su supervivencia. Sin embargo, dado que la leche materna es pobre en carbohidratos, el neonato depende durante toda la lactancia de sus fuentes endógenas de glucosa, es decir, del glucógeno y de la síntesis *de novo* de glucosa. En efecto, durante la prelactancia la ausencia de aporte exógeno obliga a que la glucogenolisis sea la única fuente de glucosa. Más tarde, los escasos glúcidos lácteos y, sobre todo, los procedentes de la gluconeogénesis a partir de ácido láctico, glicerol y aminoácidos, suministrarán a los tejidos neonatales la glucosa necesaria para su supervivencia. En este sentido, nuestros estudios han puesto de manifiesto que el neonato prematuro posee, en el momento del nacimiento, aproximadamente el 60% de las reservas de glucógeno hepático observadas en el neonato maduro. Este hecho indica que el neonato pretérmino se enfrenta a la vida extrauterina con, aproximadamente, la mitad de las reservas glucídicas que el neonato maduro. A esta considerable desventaja hay que sumar la bajísima velocidad glucogenolítica postnatal observada en el neonato prematuro, dado que la velocidad glucogenolítica hepática es prácticamente nula en el neonato prematuro durante la primera hora de vida extrauterina. En otras palabras, las limitadísimas reservas de glucosa que posee el neonato pretérmino en el momento del nacimiento, no comienzan a ser liberadas hasta pasadas las primeras horas de vida extrauterina. Por consiguiente, las reservas energéticas del neonato prematuro, no sólo son muy inferiores a las necesarias, sino que, además, no pueden ser utilizadas en el momento oportuno. Posiblemente éste es uno de los principales hándicaps del neonato prematuro en el transcurso de su adaptación a la vida extrauterina.

Teniendo en cuenta la mayor duración de la gestación, el glucógeno se acumula en el hígado del feto humano durante el mismo período de tiempo en que tiene lugar en la rata, es

decir, durante el último 10% de la gestación. Asimismo, inmediatamente tras el parto se inicia la glucogenolisis, agotándose las reservas glucídicas dentro de las primeras 20 horas. Más concretamente, al final de las diez primeras horas la concentración de glucógeno en hígado es ya muy baja, lo que indica claramente que el neonato humano también agota el glucógeno en las primeras horas de vida extrauterina. También, como en nuestro modelo experimental, el neonato prematuro humano presenta bajísimas concentraciones de glucógeno en el momento del nacimiento, lo que resulta en una situación de alta vulnerabilidad bioquímica. Como vemos, nuestro modelo experimental se asemeja extraordinariamente a la situación del neonato prematuro humano.

Por otro lado, el retraso en la inducción de la glucogenolisis observado en el neonato prematuro está, posiblemente, condicionado por la ausencia de la secreción postnatal de glucagón observada en el neonato nacido a término. Este hecho, unido al menor aclaramiento postnatal de la insulina plasmática observado en el neonato prematuro, explica por sí solo la disminución de la velocidad glucogenolítica, ya que ésta última está relacionada directamente con la razón insulina/glucagón. Como hemos mencionado antes, la ausencia de respuesta del páncreas endocrino a la situación postnatal sugiere la existencia de cierta inmadurez pancreática, al menos por lo que se refiere al par insulina/glucagón. Este hecho puede tener mayores implicaciones metabólicas que las expuestas, puesto que el par insulina/glucagón dirige decisivamente el metabolismo energético (véase más adelante). Así, inmediatamente tras el nacimiento, las necesidades de glucosa son tales que, aun en el neonato a término, la intensa glucogenolisis es incapaz de mantener la glucemia, apareciendo la denominada “hipoglucemia postnatal”, típica del recién nacido. Pues bien, nuestros resultados han puesto de manifiesto que la hipoglucemia

postnatal es mucho más prolongada en el neonato prematuro, hasta el punto de que la duración del período hipoglucémico se dobla en los neonatos nacidos prematuramente. El responsable del retraso en la reaparición de la normoglucemia parece ser, indudablemente, la incapacidad del prematuro de poner en funcionamiento los mecanismos de síntesis de glucosa *de novo*, es decir, la gluconeogénesis. En efecto, nuestros resultados muestran la existencia de un considerable retraso en la inducción de las enzimas gluconeogénicas hepáticas y renales, que da como resultado una disminución muy sustancial de la capacidad gluconeogénica del prematuro. Por consiguiente, el neonato prematuro tiene muy restringidas las disponibilidades de glucosa durante el primer estadio de la vida neonatal, precisamente cuando sus requerimientos de glucosa son más elevados. Podemos concluir, por consiguiente, que una de las causas más importantes de la vulnerabilidad neonatal del prematuro es el déficit glucídico que padece durante el primer período de vida extrauterina.

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

sino también glutamina, alanina y urea. Esto indica que el feto tiene preparados, al menos en parte, los mecanismos bioquímicos de transformación del amonio en sustancias atóxicas.

Sin embargo, el neonato prematuro presenta una fuerte hiperamonemia postnatal, que no remite hasta pasadas varias horas tras el parto. Dado que el neonato prematuro padece hipoxia inmediatamente tras el nacimiento, estudiamos la posibilidad de la existencia de una relación causa-efecto entre dichos fenómenos. Sin embargo, la hipoxia experimental no produce hiperamonemia, lo que sugiere que la hipoxia no es la causa directa del aumento de las concentraciones de amonio en sangre. En efecto, existe una correlación lineal muy significativa entre el pH sanguíneo y la amonemia, lo que sugiere que la acidosis es la responsable de la hiperamonemia, posiblemente al inhibir la captación de amonio por el hígado para su posterior transformación en urea.

### *Hipoxia e hiperlactacidemia postnatal del neonato prematuro*

Desde el comienzo de nuestro trabajo, sospechábamos la posibilidad de que el neonato prematuro sufriese durante la prelactancia un apreciable período de hipoxia. Para dilucidar esta posibilidad, estudiamos las concentraciones de oxígeno en sangre durante los primeros minutos de vida extrauterina. Nuestros resultados pusieron de manifiesto que el neonato prematuro sufre un retraso sustancial en la adquisición de las oxemias postnatales normales, es decir, las observadas en el neonato maduro. Es más, la evolución postnatal de las oxemias en los neonatos maduros sometidos a hipoxia experimental, semejaba extraordinariamente a la observada en los prematuros. Por consiguiente, estos resultados sugerían que los tejidos del neonato prematuro sufrían una hipoxia transitoria durante



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

Para confirmar la influencia de la hipoxia en el metabolismo del ácido láctico, sometimos a hipoxia experimental a neonatos maduros, con objeto de comprobar si su comportamiento metabólico mimetizaba el del recién nacido prematuro. Asimismo, intentábamos conocer las consecuencias de la hipoxia sobre el metabolismo neonatal, ya que es bien conocido el hecho de que gran parte de la morbi-mortalidad neonatal es imputable a episodios de hipoxia sufridos durante o tras el parto. Nuestros resultados confirmaron la relación existente entre la concentración de oxígeno en sangre y la desaparición

del ácido láctico plasmático, poniendo de manifiesto que la hipoxia postnatal produce elevadísimas lactiacidemias acompañadas de acidosis. La hipoxemia, consecuencia de la hipoxia experimental, se detecta en hígado, donde se observa una drástica disminución de la razón de oxidorreducción citoplasmática, así como de la carga energética. Otro hecho muy importante, deducible de estos resultados, es que la hipoxia inhibe, asimismo, la utilización de glucosa en estas circunstancias. Estos resultados confirman nuestra hipótesis de que la utilización de glucosa está también inhibida en el neonato prematuro durante las primeras horas de vida extrauterina. Por consiguiente, debemos considerar la situación postnatal del prematuro como de alta vulnerabilidad metabólica, en la que el recién nacido no sólo posee reservas energéticas insuficientes, sino que difícilmente puede utilizar los sustratos disponibles. Por último, debemos recordar la importancia del ácido láctico como sustrato neonatal. En efecto, el feto durante el último período de la gestación acumula una considerable cantidad de ácido láctico en plasma. Es asombroso, por consiguiente, que la enorme cantidad de ácido láctico acumulado se utilice rápidamente durante las primeras horas de vida extrauterina. Es más, como tuvimos ocasión de demostrar en su momento, la mayor parte del ácido láctico desaparecido es utilizado por vía oxidativa, resultando en el  $\text{CO}_2$  espirado. En otras palabras, el ácido láctico se consume rápidamente tras el parto, utilizando el oxígeno suministrado por el establecimiento de la ventilación pulmonar. Por consiguiente, la importancia del ácido láctico como metabolito energético del neonato es evidente, no sólo por la cantidad y velocidad con que se consume, sino, muy decisivamente, por la vía elegida, una vía exclusivamente energética. En este sentido, tenemos que recordar que durante la prelactancia el recién nacido dispone de escasísimos recursos y, en consecuencia, debe hacer uso de ellos

por la vía más eficiente desde el punto de vista energético. Estos resultados resaltan, a su vez, la importancia del metabolismo oxidativo durante el período neonatal temprano, descartando la idea de que el neonato “recuerda” durante cierto tiempo el metabolismo hipóxico fetal.

Sin embargo, la importancia del ácido láctico como sustrato neonatal adquiere su verdadera dimensión al demostrarse que puede servir como sustrato energético del cerebro. En este sentido, nuestros resultados demuestran, sin lugar a dudas, que el cerebro consume ácido láctico durante la vida neonatal temprana. Este hecho resulta de una importancia extraordinaria, si se piensa que el cerebro recibe poca glucosa tras la interrupción del suministro transplacentario. Es más, hasta el comienzo de la lactancia el cerebro del neonato carece de los sustratos alternativos a la glucosa, es decir, de los cuerpos cetónicos, ya que éstos proceden de la transformación de los ácidos grasos lácteos (véase anteriormente). Por consiguiente, el ácido láctico es el sustrato del cerebro, “puente” entre la glucosa materna y los cuerpos cetónicos, salvando el vacío de la transición a la vida extrauterina.

Por otro lado, la utilización de ácido láctico por el cerebro del neonato es muy sensible al suministro de oxígeno. Por consiguiente, podemos afirmar que el cerebro del neonato prematuro dispondrá de escasa energía para su supervivencia, puesto que el sustrato disponible en mayor cantidad, es decir, el ácido láctico, no podrá ser utilizado eficientemente. En efecto, el ácido láctico no puede ser utilizado por el cerebro del prematuro al carecerse de las concentraciones de oxígeno necesarias. Como vemos, los hándicaps metabólicos se van sumando hasta poner en peligro la propia supervivencia del neonato prematuro.

### *Remisión de la hipoxia del prematuro por el tratamiento materno con glucocorticoides*

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

En este sentido, nuestros resultados mostraron que el prematuro posee, en el momento del nacimiento, concentraciones de surfactante pulmonar muy inferiores a las observadas en el neonato maduro, lo que podría ser la causa de la hipoxemia encontrada en el neonato prematuro inmediatamente tras el parto. Es más, la falta de surfactante pulmonar podría ser la responsable de la persistencia de la lactacidemia en el prematuro ya que, como hemos visto anteriormente, las lactiacidemias están inversamente relacionadas con las oxemias. Todo ello explicaría, pues, la existencia de tan alta mortalidad postnatal observada en el neonato prematuro durante las primeras horas de vida extrauterina.

Para poner a prueba esta hipótesis decidimos investigar, en primer lugar, la evolución postnatal de la  $PO_2$ ,  $PCO_2$ , pH y concentración sanguínea de ácido láctico en los neonatos maduros y prematuros. Estos estudios confirmaron los anteriormente obtenidos en nuestro laboratorio, en cuanto a lo que se refiere a la hipoxia que sufre el neonato prematuro de rata durante las primeras horas de vida extrauterina, dado que el

neonato prematuro no consigue remontar las bajas oxemias conseguidas durante los primeros 20 minutos, permaneciendo hipóxico durante, al menos, dos horas después del nacimiento. Por lo que respecta a la hipercapnia que tiene lugar inmediatamente tras el parto en el neonato a término, el neonato prematuro se recupera más tarde, aunque con ligeras diferencias. Estos resultados parecen indicar que la hipoxia postnatal del neonato prematuro puede estar relacionada con el déficit de surfactante pulmonar antes mencionado, puesto que una disminución del surfactante en la membrana alveolar desfavorecerá la adquisición de oxígeno, sin afectar, presumiblemente, a la liberación de  $\text{CO}_2$  que lo hace en favor de gradiente. Por otro lado, la caída postnatal del pH es mayor en el neonato prematuro, manteniéndose bajos pH durante más largo tiempo. Asimismo, la evolución del pH en ambos grupos de neonatos sigue un perfil inverso a la concentración sanguínea de ácido láctico, lo que sugiere que, dado que ambos están relacionados inversamente, la acidosis en ambos grupos de neonatos tiene un componente metabólico mayoritario.

Pues bien, nuestro estudio demostró claramente que el tratamiento materno con corticoides remite absolutamente la hipoxemia postnatal del neonato prematuro, recuperando las concentraciones de oxígeno observadas en el neonato maduro. Asimismo, el tratamiento materno con corticoides adelanta la remisión de la hipercapnia en el neonato prematuro, asemejando el perfil de la  $\text{PCO}_2$  del prematuro a la del neonato maduro. Por consiguiente, podemos concluir que el tratamiento de la madre con corticoides suprime uno de los principales hándicaps del neonato prematuro, es decir, la hipoxemia postnatal. Como sabemos, éste es un hecho importantísimo en estas circunstancias, dado que el metabolismo oxidativo es vital durante las primeras horas de vida extrauterina. Así, como hemos visto antes, la hipoxia sufrida por el neonato prematuro

conduce a una paralización del metabolismo oxidativo, impidiendo la utilización de los principales sustratos metabólicos. En otras palabras, nuestros resultados sugieren que el tratamiento con corticoides recupera el metabolismo oxidativo normal, consiguiendo que el neonato prematuro pueda comportarse de manera similar a como lo hace el neonato nacido a término. De hecho, el tratamiento con corticoides remite parcialmente la hiperlactacidemia, hasta alcanzar niveles similares a los observados en el neonato nacido a término. Por consiguiente, el tratamiento con corticoides mejora las posibilidades de la utilización del ácido láctico por el cerebro, lo que, singularmente, contribuye a su éxito clínico en la prevención de las secuelas asociadas al distrés respiratorio del recién nacido prematuro. Podemos concluir, pues, que el tratamiento materno con corticoides remite la hipoxia postnatal del recién nacido prematuro, lo que se refleja, muy decisivamente, en la mejora de la utilización de los sustratos metabólicos y, en especial, la del ácido láctico.

Es importante que señalemos que el tratamiento materno con corticoides, mientras que es capaz de remitir totalmente la hipoxia postnatal del neonato prematuro, no logra alcanzar los perfiles de lactacidemia observados en el neonato maduro. En otras palabras, el tratamiento consigue recuperar la oxigenación normal de la sangre pero, aunque aumenta muy considerablemente la utilización del ácido láctico plasmático, no consigue remitir totalmente la hiperlactacidemia. Por consiguiente, estos resultados sugieren la existencia de otros factores, además de los mencionados, en la utilización de ácido láctico por los tejidos extracerebrales. En efecto, resultados obtenidos en nuestro laboratorio indican que, durante el último período de la gestación, ocurren cambios drásticos en los porcentajes de las diversas poblaciones mitocondriales hepáticas. En concreto, podemos afirmar que la población mito-

condrial más activa comienza su crecimiento durante el último 5% de la gestación de la rata. Esto quiere decir que el neonato prematuro accede a la vida extrauterina con un tipo de mitocondria que no está capacitada para llevar a cabo un metabolismo oxidativo tan eficiente como el requerido inmediatamente tras el nacimiento.

### *Prematuridad e insuficiencia de surfactante pulmonar*

Es bien conocido que los mamíferos poseen “pulmones activos”, es decir, pulmones que son responsables, por sí mismos, no sólo de la respiración sino, asimismo, de la ventilación pulmonar. Esta ventajosa cualidad, frente a los inmóviles pulmones de las aves, conlleva la servidumbre de una obligatoria plasticidad. En este sentido, los pulmones autoventilados deben poseer una membrana luminal especialmente diseñada. Así, no sólo debe extenderse y contraerse con una frecuencia determinada, sino que debe conservar durante la tensión y distensión las cualidades propias de su papel como solución de continuidad entre un líquido, la sangre, y el aire que llena los alveolos. Para solucionar este difícil problema, la membrana alveolar posee un complejo de lípidos y proteínas denominado “surfactante”. De los primeros, los más importantes son los fosfolípidos que, gracias a sus peculiares características químicas, disminuyen extraordinariamente la tensión superficial de la membrana alveolar. Así, la especial disposición de sus extremos zwitteriónicos, en contraposición a las largas cadenas hidrofóbicas, aumenta la extensibilidad de la membrana luminal, aún conservando las cualidades idóneas para el transporte de oxígeno.

La síntesis de los fosfolípidos del surfactante pulmonar tiene lugar durante el último período de la gestación, concretamente

durante el último 10% de la gestación. De estos resultados se deduce que el neonato prematuro accede a la vida extrauterina con menos dotación de surfactante, lo que, presumiblemente, debe afectar a la correcta adquisición de oxígeno en las estructuras alveolares.

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

### *Oclusión del “ductus arteriosus” e hipoxia perinatal*

Cuando el *ductus arteriosus* permanece abierto tras el nacimiento, se produce el síndrome denominado “*ductus arteriosus* patente o persistente”, que cursa con dificultades respiratorias. Con objeto de mejorar nuestro conocimiento sobre las consecuencias metabólicas del “*ductus arteriosus*



patente”, decidimos investigar los cambios metabólicos que tuvieran lugar en el neonato como consecuencia de la permanencia de la viabilidad del *ductus arteriosus*. En este sentido y dado que la oclusión del *ductus arteriosus* ocurre tras la obliteración del cordón umbilical, decidimos diseñar un modelo en el cual el neonato se mantenía unido al cordón umbilical tras el nacimiento, con lo que se conseguía que permaneciese abierto el *ductus arteriosus*. La determinación de los parámetros bioquímicos en el mencionado modelo dio como resultado la constatación de la presencia de hipoxia en los neonatos que permanecieron unidos al cordón umbilical. Es más, la hipoxia cursa con hiperlactacidemia, lo que demuestra que siempre que existe hipoxia se inhibe la utilización de ácido láctico. Sin embargo, el perfil de la evolución de estos parámetros no es coincidente con el observado en los neonatos prematuros, lo que confirma que el retraso en la oclusión del *ductus arteriosus* no es la causa de la hipoxia sufrida por el recién nacido prematuro.

### *Prematuridad y daño cerebral*

En lo mencionado hasta aquí subyace la idea de la existencia de una relación causa-efecto entre prematuridad y daño cerebral. Sin embargo, la sucesión de eventos bioquímicos que transcurren entre uno y otro es extraordinariamente compleja, lo que pone de manifiesto que los fenómenos fisiológicos están siempre engarzados lógicamente aunque, a veces, el desconocimiento de un eslabón dé al traste con nuestros más sofisticados razonamientos. En el caso que nos ocupa, todo comienza, aparentemente, con la interrupción de la gestación antes de su término natural. El neonato se expone a los rigores fisicoquímicos de la vida extrauterina con importantes hándicaps bioquímicos. Por un lado, carece de suficientes reservas glucídicas y

las disponibles tardan en movilizarse a causa de la insuficiente secreción de glucagón y el tardío aclaramiento de la hiperinsulinemia fetal. Por otro, el parto prematuro interrumpe, en un momento crítico, la síntesis del surfactante pulmonar, componente alveolar esencial para la adquisición del oxígeno atmosférico. El resultado inevitable de este déficit de surfactante es la hipoxia y la subsecuente hiperlactacidemia. El ácido láctico plasmático, que constituye una reserva energética importantísima durante los momentos que siguen al parto, no puede ser utilizado por falta de oxígeno. De esta manera, no sólo persiste la acidosis y su posible morbilidad, sino que los tejidos neonatales se ven privados de su casi exclusivo sustrato en estas circunstancias, es decir, del ácido láctico. Este hecho se ve agravado por la ausencia de sustratos alternativos pues, como hemos mencionado, las disponibilidades de glucosa están muy restringidas. En otras circunstancias se tomarían medidas para preservar al cerebro de este déficit energético. Sin embargo, el ácido láctico, que constituye el principal sustrato del cerebro en circunstancias normales, no puede ser utilizado como fuente de energía, dada la falta de oxígeno. Presumiblemente, el metabolismo cerebral queda paralizado, puesto que la hipoxia inhibe, casi absolutamente, la lipogénesis *de novo*. Si la hipoxia continúa, una multitud de sucesos patológicos tendrán lugar inevitablemente, causando la fatal paralización de la maquinaria metabólica. Pero aun si la oxigenación artificial o la propia naturaleza consiguen vencer las dificultades más importantes, restableciéndose paulatinamente la normalidad metabólica, aun en esta afortunada eventualidad, las estructuras cerebrales omitidas no podrán ser sintetizadas y, menos aún, ensambladas *ex novo*. Esta es la gran servidumbre del desarrollo cerebral: su casi absoluta irreversibilidad.

## **EL PROCESO HIPÓXICO-ISQUÉMICO EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL**

Como hemos visto antes, los principales problemas con los que se encuentra el neonato prematuro están directamente relacionados con la falta de oxígeno y de glucosa. La hipoxia es debida al déficit de surfactante, que le impide la correcta adquisición del oxígeno, y la fuerte hipoglucemia a la falta de reservas de glucógeno, dado que su síntesis se ha interrumpido en el momento del nacimiento. Este fenómeno, es decir, el déficit de oxígeno coincidente con la restricción de las disponibilidades de glucosa, es el paradigma del proceso isquémico, en el cual la disminución del flujo sanguíneo somete al tejido irrigado a la peor de las circunstancias. Así, la hipoxia reduce severamente el rendimiento del metabolismo al obligar al uso exclusivo de la vía anaerobia. En otras circunstancias, la baja eficiencia del proceso energético se compensaría con el aumento de la actividad de la glucólisis anaerobia, pero la falta de glucosa conduce al consumo inmediato de sus reservas.

El proceso hipóxico-isquémico comienza con la rotura de un vaso sanguíneo cerebral, que ocasiona la caída del flujo sanguíneo en la zona irrigada, lo que da lugar a una isquemia intensa en el centro del territorio infartado y a una isquemia menos pronunciada en la periferia del mismo. Las células del núcleo isquémico mueren en pocos minutos, mientras que las periféricas, situadas en la denominada “penumbra isquémica”, resultan dañadas, pues aunque el contenido de ATP permanece constante, las disponibilidades de glucosa están comprometidas. Sin embargo, las neuronas localizadas en la “penumbra

isquémica” y que han sobrevivido al daño isquémico pueden recuperarse cuando se restablecen las condiciones hemodinámicas y el suministro normal de glucosa y oxígeno.

Aunque se desconocen con detalle los mecanismos que median el daño celular asociado al proceso hipóxico-isquémico, conocemos que la disminución del flujo sanguíneo provoca un aumento del calcio y del sodio citosólicos, así como el aumento de la producción de ácido láctico a través de la glucólisis anaerobia, con la subsecuente disminución del pH intra y extracelular. El desequilibrio iónico conduce a la despolarización de la membrana plasmática, lo que provoca el aumento de la liberación de glutamato y la pérdida de la integridad mitocondrial, así como la alteración del metabolismo de los fosfatidilinositoles, factores todos ellos que llevan consigo la pérdida de la viabilidad celular.

En efecto, durante el proceso hipóxico-isquémico las neuronas son incapaces de mantener la polarización de la membrana plasmática, lo que produce la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. Esta despolarización trae consigo el inicio del proceso “excitotóxico”, que consiste en la liberación al espacio intercelular de grandes cantidades de glutamato y otros neuroexcitadores.

El glutamato, principal neurotransmisor excitador en el SNC, estimula los receptores ionotrópicos, acoplados al transporte de iones, del tipo N-metil-D-aspartato (NMDA), pero también los receptores metabotrópicos. La estimulación del receptor NMDA es responsable del fuerte aumento del calcio intracelular postsináptico que se produce durante el proceso hipóxico-isquémico, lo que pone en marcha una serie de procesos dependientes de calcio que desembocarán en la muerte celular. Así, el aumento de las concentraciones de calcio activa una serie de enzimas, tales como ciertas proteínas quinasas,

proteasas, fosfolipasas, endonucleasas y proteínas fosfatasa, así como sintasas de óxido nítrico. Por otro lado, la estimulación del receptor de glutamato del tipo AMPA provoca el aumento intracelular de la concentración de sodio, que origina edema celular, uno de los causantes del daño celular producido por el proceso hipóxico-isquémico.

Durante el proceso isquémico se originan cambios en ciertas macromoléculas implicadas en la señalización celular, tales como el factor nuclear  $\beta$  (NF  $\beta$ ), el factor AP-1 y el factor HIF-1 (“hypoxia inducible factor”), que van a inducir la expresión de determinados genes implicados en la muerte celular por necrosis o por apoptosis. De hecho, el factor NF  $\beta$  induce la expresión de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), de la ciclooxigenasa-2, de metaloproteinasas, de moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) y de citoquinas, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), lo que contribuye al daño isquémico mediante la producción de radicales libres y la rotura de la barrera hematoencefálica.

Tras el infarto cerebral, las neuronas de la zona central del núcleo isquémico mueren rápidamente. Por el contrario, las neuronas situadas en la zona de “penumbra isquémica” permanecen viables durante horas. En este sentido, la presencia de glutamato produce la muerte inmediata de determinadas subpoblaciones neuronales mientras que, en otras, se observa un retraso similar al observado *in vivo* en la zona de penumbra isquémica. Este hecho sugiere que durante el proceso isquémico algunas poblaciones neuronales mueren rápidamente por necrosis, mientras que otras lo hacen más tardíamente por apoptosis.

Es bien conocido que existen dos modos diferentes de muerte celular: la necrosis y la apoptosis. La necrosis es un proceso pasivo caracterizado por la pérdida de la homeostasis celular, alteración de la permeabilidad de la membrana plasmática,

hinchamiento y ruptura de los orgánulos celulares, así como la pérdida de las reservas energéticas celulares. El resultado de la necrosis es, normalmente, una reacción inflamatoria que produce infiltración local, daño vascular y edema. Por el contrario, la apoptosis se caracteriza por cambios en la estructura de la membrana celular con exposición de las fosfatidilserinas, disminución en el volumen plasmático con la formación de cuerpos apoptóticos, cambios en la permeabilidad de la membrana mitocondrial con la apertura del poro de transición, condensación de la cromatina y fragmentación del DNA.

La apoptosis se inicia por la activación de unas cisteína-proteasas denominadas caspasas, las cuales se activan por degradación proteolítica, desencadenando la muerte celular. La caspasa-3 se activa específicamente por citocromo *c*, un componente de la cadena respiratoria mitocondrial. En este sentido, la salida de citocromo *c* de la mitocondria, tras la apertura del poro de transición, activa un complejo llamado apoptosoma, que es el responsable de la activación de la caspasa-3. Es importante resaltar que el poro de transición regula el potencial de membrana mitocondrial, un parámetro que se altera durante la apoptosis inducida por calcio, excitotoxinas y radicales libres, sustancias que se producen, todas ellas, durante el proceso hipóxico-isquémico.

Posteriormente, las células apoptóticas expresan en sus membranas moléculas de adhesión, que son reconocidas por los macrófagos, los cuales proceden a su fagocitosis y posterior degradación, evitando así un posible daño para las células colindantes. Por tanto, la apoptosis es un proceso de suicidio celular, que está destinado a minimizar los daños ocasionados por el proceso inflamatorio.

### *Metabolismo de la glucosa en el SNC durante el proceso hipóxico-isquémico*

El Sistema Nervioso depende, casi exclusivamente, de la oxidación aeróbica de glucosa para la obtención de energía. Este hecho explica los efectos devastadores del proceso hipóxico-isquémico, puesto que, en estas circunstancias, no sólo el suministro de oxígeno está comprometido, sino que la glucosa llega al tejido con dificultad como consecuencia de la disminución del riego sanguíneo. Por consiguiente, la alteración del metabolismo de la glucosa en el SNC es una de las claves para entender los daños producidos por el proceso hipóxico-isquémico.

En este sentido, la glucosa se transporta a través de la membrana plasmática de las células nerviosas por un proceso de transporte facilitado, que está mediado por transportadores de glucosa de la familia GLUT. De ellos, el GLUT-1 y el GLUT-3 son las isoformas predominantes en cerebro, expresándose el GLUT-1 en las células endoteliales, así como en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos, mientras que el GLUT-3 se expresa únicamente en las neuronas post-mitóticas. El transportador GLUT-3 posee mayor afinidad por la glucosa que el GLUT-1, por lo que se ha sugerido que la presencia de GLUT-3 en las neuronas permite a éstas captar glucosa del espacio extracelular, aun en condiciones de escasa disponibilidad de la misma.

Durante el período perinatal, el proceso hipóxico-isquémico provoca el aumento de la síntesis de GLUT-1, lo que se traduce en el incremento de la captación de glucosa por el cerebro. La isquemia cerebral también aumenta la expresión de GLUT-3, como un mecanismo compensatorio de la deficiencia de glucosa asociada al proceso. Por tanto, el aumento en la expresión de los sistemas transportadores de glucosa, durante el proceso hipóxico-isquémico, desempeña un importante papel

en la prevención del daño causado por el déficit de glucosa que se produce como consecuencia de la disminución del riego sanguíneo.

Durante el proceso hipóxico-isquémico se produce la activación de la glucólisis anaerobia, con objeto de compensar la disminución de la síntesis de ATP en la mitocondria. De hecho, se ha podido comprobar que los astrocitos, que disponen de una alta capacidad glucolítica por vía anaerobia, son capaces de sobrevivir aunque la síntesis de ATP mitocondrial esté comprometida. Sin embargo, las neuronas, que carecen de esa actividad glucolítica, mueren rápidamente por la falta de oxígeno, al no disponer de una síntesis alternativa de ATP. Por otro lado, la acidosis láctica producida por la actividad glucolítica parece ser responsable, asimismo, de la muerte neuronal que tiene lugar en estas circunstancias. Sin embargo, este hecho parece depender de la concentración de ácido láctico alcanzada, puesto que el ácido láctico sintetizado en la glucólisis durante la isquemia cerebral podría ser utilizado como sustrato energético en la fase de reoxigenación.

El ciclo de las pentosas fosfato posee importantes funciones en el tejido nervioso, dado que es la principal vía de suministro del NADPH necesario para el funcionamiento de los sistemas antioxidantes celulares. Así, en la primera parte del ciclo se producen dos moléculas de NADPH a partir de NADP. En este sentido, las neuronas sometidas a estrés oxidativo responden con un aumento de la actividad del ciclo de las pentosas fosfato, así como de la actividad de la glutatión peroxidasa. Asimismo, el estrés oxidativo causado por el exceso de óxido nítrico induce la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en astrocitos, con objeto de producir el NADPH necesario para regenerar el glutatión reducido con que luchar contra el estrés oxidativo.



### *Disfunción mitocondrial en el proceso hipóxico-isquémico*

Como hemos mencionado antes, la isquemia provoca una fuerte caída en los niveles intracelulares de ATP, siendo, posiblemente, el déficit energético el responsable de la muerte neuronal. En este sentido, el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial constituye uno de los factores decisivos del daño cerebral producido por el proceso hipóxico-isquémico. Este fenómeno se caracteriza por la incapacidad de la mitocondria para llevar a cabo la transferencia de energía al ATP y por el aumento de la producción de radicales libres.

En este sentido, los componentes de la cadena respiratoria son especialmente susceptibles al daño producido por el proceso hipóxico-isquémico y posterior reperfusión. En este sentido, la disminución del flujo sanguíneo cerebral inhibe específicamente la actividad de los complejos I y II-III de la cadena transportadora de electrones mitocondrial, mientras que la actividad del complejo IV (citocromo c oxidasa) disminuye drásticamente durante el periodo de reperfusión. En cualquier caso, los complejos mitocondriales I, II-III y IV son muy sensibles al ataque de los radicales libres que se generan durante el proceso hipóxico-isquémico. Sin embargo, mientras que el complejo I es muy susceptible al daño producido por el anión superóxido, debido a su alto contenido en centros sulfoféricos, los complejos II-III y IV son los componentes más sensibles a la acción del óxido nítrico y, sobre todo, a la del peroxinitrito, formado a partir de la reacción entre el óxido nítrico y el superóxido. Asimismo, durante el proceso hipóxico-isquémico se produce la liberación de determinados componentes mitocondriales al citoplasma celular, tales como el citocromo *c*, probablemente como consecuencia de la producción de radicales libres por la mitocondria. La salida del citocromo *c* provoca no sólo la

disfunción mitocondrial, sino que desencadena, además, una serie de señales celulares que conducen a la apoptosis.

Durante el período perinatal, el proceso hipóxico-isquémico produce la disfunción mitocondrial de las células nerviosas. En este sentido, nuestros resultados indican que, en estas condiciones, la actividad del complejo mitocondrial II-III se inhibe por la disminución en la disponibilidad de oxígeno, lo que se traduce en la caída de las concentraciones de ATP. Asimismo, dichos efectos se previenen con la administración de inhibidores de la síntesis de óxido nítrico, lo que involucra a este radical libre en la disfunción mitocondrial asociada a la isquemia cerebral del recién nacido.

De hecho, la función respiratoria mitocondrial se considera una de las principales fuentes de producción de radicales libres durante el proceso hipóxico-isquémico. La producción mitocondrial del anión superóxido se lleva a cabo, principalmente, a nivel de los complejos I y III de la cadena transportadora de electrones mitocondrial. Los principales productores de superóxido son la ubiquinona, que transfiere los electrones del complejo I y II al complejo III, y el citocromo  $bc_1$ , componente del complejo mitocondrial III. Sin embargo, el superóxido generado en condiciones fisiológicas se degrada por las superóxido dismutasas, que transforman el superóxido en agua oxigenada, y por la catalasa y la glutatión peroxidasa que convierte el agua oxigenada en agua. Sin embargo, en determinadas circunstancias patológicas, generalmente relacionadas con alteraciones en la función mitocondrial, se produce un aumento en la producción de superóxido, produciéndose un desequilibrio entre su velocidad de síntesis y la de degradación, creándose una situación de estrés oxidativo. En estas circunstancias, el superóxido, que tiene una gran afinidad por los centros sulfoféricos de las proteínas, provoca la liberación del anión ferroso, lo que causa la formación de radical hidroxilo

en la reacción de Fenton. En estas condiciones, el superóxido y el radical hidroxilo alteran la estructura de diversos lípidos, proteínas e, incluso, del DNA.

Por tanto, la producción de radicales libres por la mitocondria es uno de los principales factores responsables de la muerte celular asociada al proceso hipóxico-isquémico. De hecho, se ha sugerido que la mitocondria juega un papel esencial en la decisión del tipo de muerte celular que se produce en situaciones de estrés oxidativo, es decir, entre necrosis o apoptosis. Así, cuando el daño producido es intenso, como ocurre en la isquemia severa, se produce el hinchamiento y la rotura de la mitocondria, lo que provoca la caída de las concentraciones de ATP y la subsecuente necrosis. Sin embargo, si el daño producido es más leve, la muerte por apoptosis predomina sobre la necrosis. En este sentido, durante la isquemia cerebral transitoria la liberación de citocromo c es una de las principales señales celulares implicadas en el inicio de la apoptosis.

### *Producción de óxido nítrico en el SNC*

El óxido nítrico es un radical libre que actúa como mensajero fisiológico en el Sistema Nervioso. El óxido nítrico se sintetiza en la reacción catalizada por la óxido nítrico sintasa (NOS), que sintetiza óxido nítrico y L-citrulina a partir de L-arginina. Sus acciones biológicas derivan, fundamentalmente, de la capacidad del óxido nítrico para activar la guanilato ciclasa soluble, causando el aumento de la concentración intracelular de GMP cíclico (cGMP). En situaciones fisiológicas, las neuronas producen óxido nítrico por la activación, calcio-dependiente, de la NOS neuronal (nNOS), que se expresa constitutivamente en estas células. Sin embargo, en determinadas situaciones patológicas se produce una excesiva cantidad de óxido nítrico, lo

que genera efectos neurotóxicos. En este sentido, los astrocitos y, en general, las células gliales del SNC (astrocitos, microglía y oligodendrocitos), aumentan la síntesis de óxido nítrico por la inducción de otra isoenzima, denominada NOS inducible (iNOS). La actividad de la iNOS es independiente de calcio, por lo que, una vez que se induce la síntesis de su mRNA, la proteína se sintetiza y los astrocitos producen el óxido nítrico de forma continua e incontrolada. La iNOS se induce por citoquinas, tales como el interferón- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), la interleuquina-1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y el factor necrótico tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), así como por el lipopolisacárido, es decir, la endotoxina de la pared celular de las bacterias gram-negativas. Estas citoquinas se encuentran elevadas en el cerebro en algunas situaciones neuropatológicas, por lo que se ha sugerido que la inducción de la iNOS en las células gliales juega un importante papel en la muerte neuronal presente en estas situaciones patológicas. Por otro lado, la actividad de la iNOS se inhibe por noradrenalina, AMP cíclico, interleuquina-4, interleuquina-10 y dexametasona, así como por el propio óxido nítrico mediante un mecanismo de autoinactivación.

En los últimos años, numerosos estudios han implicado al óxido nítrico en el control de las respuestas fisiológicas del cerebro frente al trauma hipóxico-isquémico. En efecto, se ha puesto de manifiesto, de manera directa, que la síntesis de óxido nítrico aumenta durante la isquemia cerebral. Asimismo, la isquemia produce un importante aumento de las concentraciones cerebrales de cGMP, sintetizado como consecuencia de la activación de la guanilato ciclasa por óxido nítrico.

En condiciones normales, la activación calcio-dependiente de la nNOS, iniciada por la estimulación de los receptores de glutamato, se enmarca dentro de las respuestas neurofisiológicas que siguen a la liberación presináptica de este neurotransmisor y, por tanto, de la transmisión del impulso nervioso. Sin embargo, en determinadas situaciones patológicas se produce

una excesiva estimulación del receptor de glutamato, lo que eleva la concentración de óxido nítrico a neurotóxica. Por otra parte, dado que las mismas citoquinas responsables de la inducción de la iNOS se encuentran elevadas en el proceso hipóxico-isquémico, se ha sugerido que la inducción de iNOS por parte de las células gliales juega un importante papel en la neurotoxicidad asociada a esta patología.

En efecto, la síntesis masiva de óxido nítrico en el cerebro produce la muerte neuronal, a través de una serie de mecanismos que implican la pérdida de la carga energética celular, la peroxidación de lípidos y proteínas, la nitrosilación proteica y el daño del DNA. Es más, la formación endógena de peroxinitrito, generado a partir de la reacción espontánea del óxido nítrico con el anión superóxido, puede ser la responsable de la neurotoxicidad del propio óxido nítrico. En este sentido, estudios realizados en neuronas en cultivo han puesto de manifiesto que el peroxinitrito es capaz de inhibir las actividades de los complejos II-III y IV de la cadena respiratoria, comprometiendo así el estado energético celular y la viabilidad neuronal. Asimismo, la inducción de la iNOS en los astrocitos produce la muerte neuronal en cocultivo, de modo similar a la producida por el peroxinitrito en los cultivos puros de neuronas, lo que pone de manifiesto el papel neurotóxico de esta sustancia. En este sentido, la administración de inhibidores de la NOS, tales como el NAME y la N-nitro-L-arginina muestra una clara protección frente al daño neuronal producido por el proceso hipóxico-isquémico.

### *Principales mecanismos antioxidantes en el SNC.*

La producción de radicales libres, aunque exacerbada en situaciones patológicas, es un proceso fisiológico para el que la célula dispone de mecanismos de defensa. Sólo cuando la

producción de radicales libres sobrepasa la capacidad de los sistemas celulares destinados a su neutralización, los radicales libres sobrantes oxidan las estructuras celulares, empezando por las moléculas más sensibles, tales como enzimas y ferro-sulfoproteínas. Posteriormente, cuando el daño ocasionado por los radicales libres es irreversible se produce la muerte celular. Pero antes ha tenido que sobrepasarse la capacidad de los procesos antioxidantes celulares, de los cuales el más importante es el protagonizado por el glutatión.

En efecto, de todos los sistemas antioxidantes de que dispone el Sistema Nervioso, el sistema glutatión reducido/glutatión oxidado es el más importante. El glutatión reducido se transforma en glutatión oxidado a través de la reacción catalizada por la glutatión peroxidasa, reacción que se acopla con la reducción de compuestos que contienen grupos peróxidos, lo que constituye el principal mecanismo de neutralización de radicales libres. La recuperación del glutatión reducido se realiza por la reacción catalizada por la glutatión reductasa, mediante el NADPH sintetizado en el ciclo de las pentosas fosfato.

Sin embargo, existen otros mecanismos de defensa contra los radicales libres, tales como la superóxido dismutasa y la catalasa, sistemas que permiten la eliminación del superóxido y del agua oxigenada, respectivamente. En este sentido, la superóxido dismutasa de astrocitos se activa en la esclerosis lateral amiotrófica, lo que indica que los astrocitos cumplen un importante papel en la defensa antioxidante del SNC. Asimismo, la vitamina C parece tener un papel muy importante como antioxidante cerebral, puesto que el ácido ascórbico se acumula en las neuronas hasta alcanzar concentraciones mucho mayores que en la mayoría de los tejidos. La función antioxidante del ascorbato se lleva a cabo mediante inactivación directa de especies oxidantes, aunque acoplado al sistema glutatión reducido/glutatión oxidado. Asimismo, la vitamina E es un

importante antioxidante liposoluble, capaz de proteger a la célula contra la peroxidación lipídica de las membranas. En este sentido, la concentración de vitamina E es muy elevada en astrocitos, lo que unido a la alta actividad del sistema glutathion reducido/glutathion oxidado observado en estas células, señala a los astrocitos como los encargados de la protección del Sistema Nervioso contra los radicales libres.

Durante el desarrollo del Sistema Nervioso Central la neurogénesis precede a la aparición de los astrocitos propiamente dichos. Por consiguiente, la protección ejercida por estos últimos contra los radicales libres está ausente durante gran parte del desarrollo cerebral. En este sentido, la proliferación neuronal comienza a mediados de la gestación, mientras que la astrocitogénesis sólo lo hace en los alrededores del parto. Es evidente, por tanto, que durante un periodo largo del desarrollo las neuronas dependen de su propio poder antioxidante. Este hecho señala a la vitamina C como el agente encargado de la protección antioxidante del Sistema Nervioso durante el desarrollo cerebral temprano, encargándose de la neutralización de los radicales libres que podrían dañar seriamente las delicadas estructuras cerebrales aún inmaduras. Más tarde, los astrocitos se encargarán de la labor antioxidante, ya que poseen una alta actividad del sistema glutathion reducido/glutathion oxidado y una alta concentración de vitamina E.

### *La hemorragia intracraneal: causa y efecto del proceso hipóxico-isquémico*

La hemorragia intra-periventricular (IVH) es una lesión cerebral muy frecuente en prematuros, que se caracteriza por la aparición de hemorragias en la matriz germinal subependimial y la subsecuente rotura y vertimiento de la sangre en el

ventrículo. Como consecuencia se producen la destrucción de la matriz germinal y el infarto hemorrágico periventricular. Parece seguro que la hemorragia intra-periventricular se produce por cambios bruscos en el flujo sanguíneo que afectan a los capilares de la matriz que, por su fragilidad, inician el proceso con su ruptura. La fragilidad de los capilares de la matriz aumenta con la inmadurez del tejido, así como con el daño hipóxico-isquémico sufrido por la propia matriz.

La matriz germinal subependimal es una región ventrolateral adyacente a los ventrículos laterales, que suministra neuroblastos entre las 10 y 20 semanas de gestación y, más tarde, en el tercer trimestre, genera glioblastos que darán lugar a los astrocitos y a los oligodendrocitos. La destrucción de la matriz germinal y, consecuentemente, de los precursores neuronales y gliales, lleva consigo el cese del desarrollo de la corteza cerebral, produciendo diversas secuelas dependiendo de las zonas afectadas. Muy frecuentemente las lesiones parenquimales, es decir, las lesiones de zonas amplias de la materia blanca adyacente al ventrículo, suelen ser unilaterales, presentando una localización asimétrica.

La hemorragia intra-periventricular se produce principalmente en el cuarto día después del nacimiento y, frecuentemente, produce la dilatación del ventrículo provocando hidrocefalia. La hemorragia parece ser consecuencia de un infarto venoso, aunque sus causas no están completamente dilucidadas. De hecho, el infarto venoso parece producirse como consecuencia de los cambios bruscos del flujo sanguíneo, que no pueden ser soportados por la fragilidad de los capilares sanguíneos de la matriz periventricular. El aumento brusco del flujo sanguíneo parece afectar especialmente a un giro en U que presenta la circulación venosa a nivel del foramen de Monro. En este sentido, las fluctuaciones del flujo sanguíneo son consecuencia de las alteraciones de la ventilación producidas



por el distrés respiratorio que frecuentemente sufre el prematuro, aunque no se descartan la hipercapnia y el sufrimiento del parto como causas coadyuvantes.

Además de la fragilidad capilar, el daño hipóxico-isquémico *per se* parece ser una causa importante de la hemorragia intra-periventricular. Así, las células endoteliales de los capilares de la matriz periventricular son ricas en mitocondrias, lo que sugiere que estas células son particularmente sensibles a la falta de oxígeno. Es más, dependiendo de la duración de la hipoxia, así como del momento del desarrollo, el proceso hipóxico-isquémico puede producir, a su vez, episodios de hemorragia intracraneal, afectándose otras zonas críticas en donde la neurogénesis secundaria esta aún activa. Asimismo, los oligodendrocitos inmaduros son muy sensibles al estrés oxidativo, lo que puede contribuir a los efectos deletéreos del proceso hipóxico-isquémico. Por último, la materia blanca inmadura es muy sensible al daño producido por el proceso hipóxico-isquémico, produciéndose un resblandecimiento de la materia blanca, denominado leucomalacia periventricular (PVL).

Por lo que respecta a la materia gris, su principal vulnerabilidad radica en la diferente sensibilidad de los receptores de glutamato durante el periodo perinatal. En efecto, aproximadamente el 65% de las sinapsis del SNC utilizan el glutamato como neurotransmisor, el cual, en condiciones normales, es recaptado tras realizar su función neurotransmisora. Sin embargo, el proceso hipóxico-isquémico produce un considerable aumento de la concentración de glutamato en el compartimento extracelular, no sólo por el aumento de la liberación presináptica del aminoácido, sino por la inhibición de su recaptación producida por el ácido araquidónico, liberado de las membranas neuronales en el proceso hipóxico-isquémico. El acúmulo de glutamato produce el fenómeno denominado

excitotoxicidad, que consiste en la respuesta de las células adyacentes a un estímulo glutamatérgico exagerado. El efecto se lleva a cabo a través del receptor de glutamato de tipo NMDA, que produce la entrada masiva de calcio, la activación de la NOS y la correspondiente producción de radicales libres. Durante el periodo perinatal este proceso se agudiza, dado que el receptor de glutamato de tipo NMDA posee subunidades diferentes a las del adulto, lo que le confiere una mayor sensibilidad al glutamato.

Como vemos, se trata de un ciclo vicioso, puesto que el proceso hipóxico-isquémico provoca la hemorragia intracranial y ésta acelera, a su vez, el proceso hipóxico-isquémico. Dada la especial susceptibilidad del cerebro del neonato y, especialmente el del prematuro, el proceso hipóxico-isquémico puede provocar considerables efectos deletéreos que, en algunos casos, resultan irreversibles.

## EPÍLOGO

En lo escrito anteriormente subyace la idea de la existencia de una relación causa-efecto entre prematuridad y daño cerebral. Sin embargo, la sucesión de eventos bioquímicos que transcurren entre uno y otro es extraordinariamente compleja, lo que pone de manifiesto que los fenómenos fisiológicos están siempre engarzados lógicamente aunque, a veces, el desconocimiento de un eslabón dé al traste con nuestros más sofisticados razonamientos. En el caso que nos ocupa, todo comienza aparentemente con la interrupción de la gestación antes de su término natural. El neonato se expone a los rigores fisicoquímicos de la vida extrauterina con importantes hándicaps bioquímicos. Por un lado, carece de suficientes reservas glucídicas y las disponibles tardan en mobilizarse a causa de la insuficiente secreción de glucagón y el tardío aclaramiento de la hiperinsulinemia fetal. Por otro, el parto prematuro interrumpe, en un momento crítico, la síntesis del surfactante pulmonar, componente alveolar esencial para la adquisición del oxígeno atmosférico. El resultado inevitable de este déficit de surfactante, es la hipoxia y la subsecuente hiperlactacidemia. El ácido láctico plasmático, que constituye una reserva energética importantísima durante los momentos que siguen al parto, no puede ser utilizado por falta de oxígeno. De esta manera, no sólo persisten la acidosis y su posible morbilidad, sino que los tejidos neonatales se ven privados de su casi exclusivo sustrato en estas circunstancias, es decir, del ácido láctico. Este hecho se ve agravado por la ausencia de sustratos alternativos pues, como hemos mencionado, las disponibilidades de glucosa

están muy restringidas en estas circunstancias y no es posible preservar al cerebro del déficit energético. Así, el ácido láctico, que constituye el principal sustrato del cerebro en circunstancias normales, no puede ser utilizado como fuente de energía, dada la falta de oxígeno. Presumiblemente, el desarrollo cerebral queda paralizado, puesto que la hipoxia inhibe también la lipogénesis *de novo*. Si la hipoxia continúa, una multitud de sucesos patológicos tendrán lugar inevitablemente, causando la fatal paralización de la maquinaria metabólica. Sin embargo, si el aporte de oxígeno es el adecuado, el prematuro restablece el consumo de ácido láctico. Hoy sabemos que aún más importante que la recuperación de las oxemias es la normalización del ritmo de la ventilación pulmonar. Así, un aumento transitorio de la presión sanguínea en la zona periventricular, producida por la polipnea sincopada del prematuro distrésico, puede causar la rotura de los capilares en “U” característicos de esta zona, especialmente en la circulación venosa a nivel del foramen de Monro.

En este sentido, la hemorragia intra-periventricular es una lesión cerebral muy frecuente en prematuros, la cual se caracteriza por la aparición de hemorragias en la matriz germinal subependimal y la subsecuente rotura y vertimiento de la sangre en el ventrículo. Como consecuencia de la hemorragia, se producen la destrucción de la matriz germinal y el infarto hemorrágico periventricular. Parece seguro que la hemorragia intra-periventricular se produce por cambios bruscos en el flujo sanguíneo, que afectan a los capilares de la matriz, que por su fragilidad inician el proceso con su ruptura. La fragilidad de estos capilares aumenta con la inmadurez del tejido, así como con el daño hipóxico-isquémico sufrido por la matriz. La destrucción de la matriz germinal y, consecuentemente, de los precursores neuronales y gliales, lleva consigo el cese del desarrollo de la corteza cerebral, produciendo diversas secuelas depen-

diendo de las zonas afectadas

Además de la fragilidad capilar, el daño hipóxico-isquémico *per se* parece ser una causa importante de la hemorragia intra-periventricular. Así, las células endoteliales de los capilares de la matriz periventricular son ricas en mitocondrias, lo que sugiere que estas células son particularmente sensibles a la falta de oxígeno. Es más, dependiendo de la duración de la hipoxia, así como del momento del desarrollo, el proceso hipóxico-isquémico puede producir, a su vez, episodios de hemorragia intracraneal, afectándose otras zonas críticas en donde la neurogénesis secundaria está aún activa. Asimismo, los oligodendrocitos inmaduros son muy sensibles al estrés oxidativo, lo que puede contribuir a los efectos deletéreos del proceso hipóxico-isquémico a largo plazo, contribuyendo a la dismielinización. Por último, la materia blanca inmadura es muy sensible al daño producido por el proceso hipóxico-isquémico, produciéndose la denominada leucomalacia periventricular.

Como vemos, se trata de un ciclo vicioso: el proceso hipóxico-isquémico provoca la hemorragia intracraneal y ésta acelera, a su vez, el proceso hipóxico-isquémico. Dada la especial susceptibilidad del cerebro del neonato, y especialmente el del prematuro, el proceso hipóxico-isquémico puede provocar considerables efectos deletéreos que, en algunos casos, resultan irreversibles.

En este sentido, es necesario poner de manifiesto que la vulnerabilidad de las estructuras cerebrales a los radicales libres es extremadamente alta durante el periodo postnatal temprano. En efecto, durante el desarrollo del Sistema Nervioso Central la neurogénesis precede a la aparición de los astrocitos propiamente dichos. Por consiguiente, la protección ejercida por estos últimos contra los radicales libres está ausente durante gran parte del desarrollo cerebral. En este sentido, la proliferación

neuronal comienza a mediados de la gestación, mientras que la astrocitogénesis sólo lo hace en los alrededores del parto. Es evidente, por tanto, que durante un periodo largo del desarrollo, las neuronas dependen de su propio poder antioxidante. Este hecho señala a la vitamina C como el agente encargado de la protección antioxidante del Sistema Nervioso durante su desarrollo temprano, encargándose de la neutralización de los radicales libres, que podrían dañar seriamente las delicadas estructuras cerebrales aún inmaduras. Más tarde, los astrocitos se encargarán de la labor antioxidante, ya que poseen una alta actividad del sistema glutatión reducido/glutatión oxidado y una alta concentración de vitamina E.

Es importante recordar que la zona periventricular es muy activa durante el periodo postnatal temprano pues, como hemos podido demostrar muy recientemente, esta zona no sólo es el centro de proliferación de los precursores neuronales, que reclutados por la denominada “corriente migratoria rostral” se dirigirán al bulbo olfatorio, sino que constituye el punto de partida para la emigración de las neuronas hacia el cuerpo estriado. En este sentido, hemos podido demostrar que en la etapa postnatal temprana la zona periventricular dirige el desarrollo del estriado, comandando la axonogénesis en determinados grupos de neuronas, lo que crea las interconexiones propias de este núcleo. Todo ello regulado por la albúmina y a través de su mensajero específico, es decir, el ácido oleico, que actúa como factor neurotrófico en esta etapa tan delicada del desarrollo cerebral. De esta manera, nuestra investigación, que comenzó con la dilucidación del destino del ácido láctico, nos ha llevado al descubrimiento de que otro ácido, el ácido oleico, posiblemente con el esqueleto carbonado procedente del primero, es el factor neurotrófico que dirige el desarrollo del cerebro durante el periodo perinatal.

Aunque, naturalmente, queda un largo camino por recorrer, podemos afirmar que estamos muy cerca de conocer con detalle la cadena de causas y efectos por los que la prematuridad o el trauma hipóxico-isquémico causado por otros accidentes perinatales, conducen al daño cerebral irreversible. En efecto, la hipoxia tiene otra dimensión particular en el caso del recién nacido, puesto que la hipoglucemia fisiológica del neonato convierte a la hipoxia en la terrible isquemia, situación en que no sólo se carece de oxígeno, sino también de glucosa. Como hemos podido comprobar en nuestro laboratorio, éstas son las peores circunstancias para la supervivencia de las neuronas, puesto que el déficit de glucosa priva a las neuronas del único sustrato que puede ser utilizado en ausencia de oxígeno. Ni siquiera el ácido láctico puede ayudar en estas circunstancias, puesto que, como hemos mencionado antes, su utilización requiere oxígeno. Así que, las veinte moléculas de ATP que en condiciones normales aportaría cada una de ácido láctico tampoco están disponibles. La autofagia no es una opción para el cerebro en desarrollo. Por lo tanto, sólo queda la apoptosis, es decir, el suicidio de la neurona o, en el peor de los casos, la necrosis del tejido. La necrosis no haría sino empeorar considerablemente la situación, puesto que, como se ha descubierto recientemente, el proceso inflamatorio que sigue a la necrosis impide que la plasticidad neuronal intente reparar el daño. Si éste se produjese, posiblemente sería irreparable, puesto que el desarrollo del Sistema Nervioso es un camino discreto y preciso, pero que avanza en una sola dirección y en donde resulta difícil detenerse y, mucho menos, volver atrás.

Afortunadamente, sin embargo, este escenario rara vez tiene lugar en nuestros hospitales, pues la normalización del ritmo de la ventilación pulmonar, acompañada de esmerados cuidados neonatológicos, evitan, en la mayoría de los casos,

que el neonato atravesase el umbral de lo irreversible y lo dirigen hacia un desarrollo pleno sobre el que crecerán sus capacidades cognitivas.

Sirvan estas palabras como reconocimiento a la labor extraordinaria de nuestros neonatólogos, que han reducido la mortalidad perinatal en nuestro país hasta límites que parecían inalcanzables y que hoy son motivo de admiración a nivel internacional.

He dicho



DISCURSO DE CONTESTACIÓN  
DEL  
EXCMO. SR. DR. D. JULIO R. VILLANUEVA



Excelentísimo Señor Presidente  
Excelentísimos Señoras y Señores Académicos  
Señoras y Señores

Mis primeras palabras han de ser para manifestar mi agradecimiento, de un lado, al Profesor José María Medina y, de otro, a la Presidencia de la Real Academia de Medicina de Salamanca, por el encargo que me han hecho de contestar al discurso de ingreso en esta Real Academia de un nuevo académico. Siempre resulta agradable intervenir cuando se reconoce y premia la labor científica y docente de un colega, compañero de claustro y, sobre todo, de frecuentes y numerosas actividades en el Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces a lo largo de las últimas décadas. A decir verdad, en todos estos años hemos tenido ocasión de tratar al nuevo académico en la Universidad de Salamanca, como dedicado profesor con gran inquietud por las actividades docentes e investigadoras, así como por el interés en la formación de jóvenes investigadores en áreas científicas de su campo.

Nos resulta así mismo grato reconocer que, a lo largo de su trayectoria universitaria, el Profesor Medina ha transitado por todos los estamentos de la docencia desde sus primeros años de vida académica, una vez ultimada la Licenciatura en Farmacia en la Universidad de Granada, incorporándose para realizar el doctorado al Departamento de Bioquímica de esa prestigiosa universidad, hasta el día de hoy, que cumple 29

años como Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de esta Universidad.

El Profesor Medina nace en la preciosa ciudad de Ronda y está casado con María Pilar, también farmacéutica, con la que tiene dos hijos, habiendo obtenido la Licenciatura de Farmacia en 1967 en la Universidad de Granada, en donde también se doctoró en 1972 con Premio Extraordinario. Su primer cargo académico como Profesor Titular lo ostenta en la misma institución granadina, pasando luego a la Universidad Autónoma de Madrid, donde alcanza el cargo de Profesor Agregado en 1975. Posteriormente, en 1981, obtiene la cátedra de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad de Salamanca, plaza que ocupa desde entonces hasta la actualidad. Durante este período de tiempo las enseñanzas correspondientes a la especialidad las ejerce en diversas Facultades, impartiendo docencia desde Farmacia a Químicas, Biología, Medicina, Veterinaria y en la nueva especialidad de Bioquímica. Interesa subrayar que durante cinco años actúa como Director del Departamento de Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid. Ya en la ciudad de Salamanca, ejerce el cargo de Director del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular desde 1993 hasta 1997, en donde desarrolla una intensa labor docente e investigadora, contribuyendo decisivamente a la formación de jóvenes investigadores de su especialidad. De hecho, el Profesor José María Medina ha supervisado y dirigido nada menos que 29 Tesis Doctorales (12 Premios Extraordinarios) y 43 Tesinas de Licenciatura, siendo su principal área de investigación la Neurobioquímica.

Por lo que se refiere a su formación, el Profesor Medina ha llevado una interesante trayectoria científica, inicialmente bajo la dirección del Profesor Federico Mayor Zaragoza, cuando ejercía éste primero como catedrático y después como Rector de la Universidad de Granada, donde inició la formación de

su grupo docente de investigación en Bioquímica. Una vez finalizado el doctorado en 1972, con la calificación de sobresaliente *cum laude* y Premio Extraordinario, con el título “Efecto de la fenilbiguanida (fenformina) sobre la gluconeogénesis en hígado perfundido de rata”, el Profesor Medina se traslada a la Universidad de Oxford, nada menos que para incorporarse al grupo que estaba dirigiendo el Profesor Sir Hans Krebs, uno de los Premios Nobel en Fisiología y Medicina de mayor prestigio y reconocimiento en el campo de la Bioquímica, regresando a la Universidad de Granada en 1973. Esta importante etapa es seguida más tarde por otras cortas estancias en la Eige-nossische Technische Hochschule (ETH) de Zurich (1975) y, posteriormente, ya en 1979, en el Instituto Internacional de Pathologie Cellulaire et Moleculaire de la también prestigiosa e histórica Universidad de Lovaina. Participó, asimismo, en los prestigiosos Cursos especializados de Biología organizados por el Dr. N. Van Udem, patrocinados por la Fundación Gulbenkian en Lisboa, a los que acudieron un buen grupo de científicos de diferentes universidades españolas.

Desde otro punto de vista, en el contexto universitario, a lo largo de los últimos 35 años el Profesor Medina transita por los diferentes niveles del sistema docente a nivel superior, iniciando su carrera en Granada como Profesor Ayudante en 1967, después como Profesor Adjunto Numerario en 1975, Profesor Agregado Numerario en 1977 en la Universidad Autónoma de Madrid y, por último, como Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Salamanca desde 1981.

Durante todos estos años desarrolla la docencia en las universidades de Granada y Autónoma de Madrid. Más tarde, ejerce como Director del Instituto de Biología Molecular “Severo Ochoa” (CSIC-UAM) durante 3 años y, por último, ya en la Universidad de Salamanca, actúa como Director del

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular en el nuevo Edificio Departamental, en donde encabeza un amplio grupo de jóvenes investigadores y docentes.

Es oportuno mencionar también, que la principal línea de investigación como denominador común en todo este tiempo ha sido la Neuroquímica del Desarrollo, área a la que pertenecen, como luego mencionaremos, un elevado número de sus trabajos científicos. Durante todo este amplio período de dedicación a la investigación científica dirige nada menos que 29 Tesis Doctorales y 43 Tesinas de Licenciatura, principalmente en la Universidad de Salamanca, donde sigue su labor docente e investigadora actualmente. A la mencionada actividad investigadora habría que añadir la publicación de no menos de 114 artículos aparecidos en revistas internacionales de reconocido prestigio, tanto europeas como americanas, además de 42 libros y monografías, 32 revisiones y “proceedings” en revistas nacionales e internacionales y 250 comunicaciones presentadas y defendidas en congresos nacionales e internacionales. Su amplia labor desarrollada en su especialidad neurológica, obtuvo el reconocimiento nacional del Premio Reina Sofía de Investigación sobre la Prevención de Deficiencias. Más tarde, en reconocimiento a sus aportaciones a la nutrición del recién nacido, recibió el Premio Nacional del Instituto Danone.

Prueba del amplio campo de investigación desarrollado por el nuevo académico es el reconocimiento alcanzado como Académico Correspondiente de la Real Academia de Farmacia, así como Académico de Real Academia de Doctores, así como de la Academia Nacional de Medicina de México. Interesa destacar que el Profesor Medina es miembro de número de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular, de destacada trayectoria en España a lo largo de los últimos casi 40 años, siendo también miembro de la prestigiosa e histórica Biochemical Society del Reino Unido, de la New York

Academy of Sciences, así como de la International Society for Neurochemistry. Al compartir ambas actividades importantes, sobre todo en relación a la selección de proyectos de investigación y la adjudicación de becas, campo en el que el nuevo académico es un reconocido especialista, tenemos que subrayar la gran labor que a lo largo de los últimos años viene desarrollando en la Fundación Ramón Areces, donde desde la época del fundador forma parte del Consejo Científico, que antes había presidido el Profesor Severo Ochoa y últimamente el Profesor Federico Mayor Zaragoza, su maestro. Las actividades del Profesor Medina en la Fundación se enfocan, sobre todo, a la evaluación de proyectos de investigación y al gran trabajo de selección de becarios que serán pensionados para una estancia de dos años en Universidades y centros extranjeros. Decir, por último, que desde hace unos años ha ejercido su función como Miembro de Número del Club de Roma, en el campo del Capítulo Español.

Como datos más sobresalientes del *curriculum* del Profesor Medina interesa destacar su papel como Investigador principal de 44 proyectos de investigación, apoyados por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica, por la Dirección General de Política Científica, por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología, por la Fundación Ramón Areces, por la Consejería de Educación y Cultura de la Junta de Castilla y León, por el Fondo de Investigaciones Sanitarias y por la Unión Europea, así como desarrollando Acciones Integradas con Francia y el Reino Unido.

En este sentido, el Profesor José María Medina ha participado, como colaborador, en proyectos sufragados por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, bajo el título: "Effectors of terpene biogenesis", cuando aún estaba en la Universidad de Granada. Participa así mismo como colaborador en el proyecto titulado: "Adaptación metabólica al ejercicio",

sufragado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica de la Presidencia de Gobierno (1972-75). Durante esa época coincide su traslado a la Universidad de Oxford, becado por el British Council para trabajar con el Profesor H.A. Krebs en el Metabolic Research Laboratory, Radcliffe Infirmary, desarrollando un proyecto titulado: “On competition of long and short-fatty acids for oxidation” utilizando hígado perfundido y hepatocitos aislados de rata, trabajo que fue financiado por el National Research Council del Reino Unido.

Más tarde, ya en España, a partir del año 1976 actúa como Investigador Principal de una larga serie de proyectos, comenzando por uno financiado por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica sobre: “Regulación del ciclo glucosa-ácidos grasos y de la cetogénesis durante el período perinatal”. La misma Comisión Asesora ha financiado otro proyecto sobre: “Influencia de la diabetes materna en el metabolismo fetal y neonatal de rata”. En esta línea de trabajo ha desarrollado no menos de 40 proyectos de investigación, en los que el Profesor Medina ha actuado como Investigador Principal, financiados por la Junta de Castilla y León, por la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología y por el Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social, en especial el proyecto titulado: “Regulación del metabolismo de astrocitos y neuronas por la comunicación intercelular”. Por su importancia económica merece la pena mencionar también el proyecto: “Efecto de la administración de tetrahidrobiopterina sobre la biosíntesis de óxido nítrico en el Sistema Nervioso Central. Posible papel en la prevención de los efectos deletéreos de la hipoxia y de las enfermedades neurodegenerativas”, financiado por la Dirección General de Enseñanza Superior e Investigación Científica, Plan Nacional de I+D.

Otra faceta en la que el nuevo académico también se ha distinguido es la de su actividad como conferenciante, habiendo



desarrollado a lo largo de las tres últimas décadas cerca de 80 conferencias en las más diversas universidades, Colegios Oficiales de Farmacéuticos, cursos de Análisis Clínicos, hospitales de la Seguridad Social, Universidad Internacional Menéndez Pelayo de Santander y en la Universidad San Pablo CEU. Otra actividad en la que se ha destacado ha sido la relacionada con la organización de reuniones científicas y congresos en diferentes universidades españolas, así como la participación en congresos que han tenido lugar en Granada, Salamanca, Madrid, Londres y Nueva York. Las ponencias presentadas en congresos por invitación se elevan a 40 y, en general, están relacionadas con el metabolismo del glucógeno durante el desarrollo, la endocrinología perinatólogica, bases moleculares de la diabetes mellitus, metabolismo energético del neonato prematuro, cambios metabólicos y nutrición durante el período perinatal, regulación enzimática en astrocitos y neuronas en cultivo, bases nutricionales del desarrollo cerebral y sobre el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Central.

Por último, nos llama la atención de su *curriculum vitae* el elevado número de comunicaciones científicas presentadas en reuniones científicas y en congresos, un número que se aproxima a las 250, versando sobre temas que, en general, se relacionan con los antes mencionados. No podemos por menos de comentar el elevado número de capítulos relacionados con libros y que llega a las 42 contribuciones, principalmente tratando aspectos de Bioquímica perinatal y sobre la nutrición y alimentación del prematuro. Así mismo, las revisiones y “proceedings” en revistas han sido numerosas, más concretamente, 32.

Sin embargo el aspecto más importante de la labor investigadora del Profesor José María Medina se relaciona con los artículos en revistas científicas internacionales de prestigio, sometidas a evaluadores especializados y cuyo número pasa del

centenar. Entre estas revistas destacan FEBS Letters, Biochemical Journal, Molecular and Cellular Biochemistry, Archives of Biochemistry and Biophysics, Enzyme, Biology of the Neonate, Biochimica et Biophysica Acta, Journal of Inherited Metabolic Disease, Pediatric Research, Hormone and Metabolic Research, IRCS Medical Science, Life Sciences, Biochemical Pharmacology, Molecular Pharmacology, Medical Science Research, Experimental Cell Research, Molecular Pharmacology, Endocrinology, Glia, Brain Research Protocols, Brain Research, Journal of Biological Chemistry, Journal of Neurochemistry, Journal of Alzheimer's Disease, Oncogene, Neuropharmacology, etc.

Tras esta breve semblanza, realizada con pequeñas descripciones de la trayectoria científica del nuevo académico, resulta obligado glosar la importante lección que en su discurso nos acaba de dar y que todos hemos seguido con el máximo interés y atención.

En primer lugar, comentaremos las interesantes aportaciones en relación a la utilización del ácido láctico por el cerebro. Parece demostrado que el recién nacido utiliza con cierta rapidez la elevada cantidad de ácido láctico que se acumula en la sangre durante la gestación. El grupo dirigido por el Profesor Medina ha sido capaz de demostrar que el consumo del ácido láctico no se lleva a cabo por la conocida vía gluconeogénica, sino que lo hace mediante su oxidación a través del ciclo tricarboxílico. Esta observación señala al ácido láctico como un sustrato metabólico esencial en la supervivencia perinatal. Como consecuencia de estos datos, el grupo de investigación se centró en el estudio sobre la clase de tejidos neonatales que consumían ácido láctico de una forma preferencial. Tomando en cuenta a los órganos que lo hacían, en principio corazón, pulmón, hígado, etc., las investigaciones se centraron en el cerebro, dado que su desarrollo en la especie humana es, principalmente, peri-

natal. De forma ciertamente efectiva, el grupo de investigación pudo demostrar que el cerebro del neonato consumía ácido láctico de forma preferente, de hecho, con mayor velocidad que otros sustratos relevantes durante este período, tales como la glucosa y los cuerpos cetónicos. En fechas posteriores se aislaron y cultivaron neuronas, astrocitos y oligodendrocitos con la finalidad de aclarar cuáles de las células que constituyen el Sistema Nervioso eran las responsables del consumo del ácido láctico. Mediante una serie de publicaciones, el Profesor Medina y su equipo pudieron demostrar que las neuronas, los astrocitos, así como los oligodendrocitos, metabolizan ácido láctico con preferencia sobre otros sustratos; en cualquier caso, utilizan el ácido láctico tanto con fines energéticos como plásticos. En fases ulteriores, el equipo científico ha podido demostrar cómo para hacer llegar los sustratos metabólicos a las neuronas lejanas los astrocitos utilizan las denominadas “gap junctions”, como sistema de bombeo con objeto de distribuir los nutrientes entre las células del sistema nervioso.

Más allá de lo mencionado por el Profesor Medina en su discurso, un segundo campo importante de actuación del equipo investigador se relaciona con el ácido oleico, como nuevo factor neurotrófico. Se parte de la base de que la barrera hematoencefálica es impermeable a la albúmina, excepto durante el período perinatal. Según han demostrado los investigadores salmantinos, bajo los efectos de la albúmina los astrocitos sintetizan específicamente ácido oleico, a partir de los sustratos metabólicos utilizados habitualmente por el cerebro, es decir, glucosa, ácido láctico y cuerpos cetónicos. De esta forma han aclarado que el ácido oleico, una vez sintetizado, es liberado por los astrocitos para ser utilizado por las neuronas. Los resultados han puesto de manifiesto cómo el ácido oleico se incorpora a las membranas de las neuronas en aquellos puntos en los que se requiere mayor fluidez y plasticidad. De esta forma

los “conos de crecimiento”, en donde se inicia el desarrollo de los axones, se enriquecen en ácido oleico, algo que posiblemente da lugar a la flexibilidad que requiere esta estructura. Teniendo en cuenta todos sus resultados, el grupo del Profesor Medina demuestra cómo, de forma aún más sorprendente, el ácido oleico actúa, además, como agente neurotrófico, induciendo la proteína asociada al crecimiento axonal denominada GAP-43. Se ha demostrado que esta proteína cumple un papel que se considera fundamental en el crecimiento de los axones, pues constituye el andamiaje por el que se construye la estructura axonal. Como se ha demostrado, además, bajo los efectos del ácido oleico, las neuronas se agrupan y emiten sus axones para contactar con los grupos vecinos, dando lugar a estructuras como las observadas en el cerebro *in vivo*. A la vista de estos resultados, parece ser que el ácido oleico no sólo sirve de sustrato plástico en la construcción de los axones, sino que actúa, a su vez, como factor neurotrófico, tendiendo a controlar el desarrollo postnatal del cerebro.

Los datos que acabamos de exponer no cabe duda de que proyectan algunos resultados prácticos. El Profesor Medina ha puesto de manifiesto que el ácido oleico resulta ser un factor absolutamente decisivo en el desarrollo cerebral, algo que lo señala como un nutriente esencial para el desarrollo psicomotor del recién nacido. A este respecto se puede recordar el hecho de que los pacientes con Síndrome de Down presentan una menor concentración de albúmina sérica, algo que se acompaña por un porcentaje menor de ácido oleico en los fosfolípidos neuronales. Una explicación de este hecho es que las alteraciones bioquímicas observadas en el síndrome de Down podrían ser las causantes de la falta de interconexiones neuronales observada en estos enfermos. Por otro lado, se ha de tener, además, en cuenta, que el complejo albúmina-ácido oleico puede constituir un arma terapéutica en la reparación de las

estructuras cerebrales tras el *ictus*. Es un hecho que, en estas circunstancias, la barrera hematoencefálica está dañada y, por esta razón, la albúmina puede acceder a la zona afectada. Con respecto a los efectos de la albúmina, debemos resaltar su más reciente trabajo, publicado en el *Journal of Alzheimer's Disease*, en el que se demuestra que la albúmina impide los efectos tóxicos del beta amiloide gracias a que inhibe la entrada del péptido en las neuronas. Este hecho señala a la albúmina como una posible arma terapéutica en el tratamiento la enfermedad de Alzheimer.

En nombre de nuestra Corporación, sea bienvenido el Dr. D. José María Medina Jiménez.

He dicho