



11237
20/108
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

TRIPTOFANO PLASMÁTICO LIBRE COMO INDICADOR DE
LA SÍNTESIS DE SEROTONINA CEREBRAL EN RATAS Y
HUMANOS RECIENTE NACIDOS CON DESNUTRICIÓN
INTRAUTERINA

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS

P R E S E N T A :

EL MÉDICO PEDIATRA
GABRIEL MANJARREZ GUTIÉRREZ

MÉXICO, D. F.,

1987

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

I. INTRODUCCION	1
II. MATERIAL Y METODOS	15
a) ESTUDIO EXPERIMENTAL	15
b) ESTUDIO EN HUMANOS	19
c) METODOS BIOQUIMICOS	22
- Actividad de la enzima Triptofano 5-hidroxilasa	22
- Cuantificación de 5-hidroxitrip- tamina	25
- Determinación de Triptofano	28
- Determinación de proteínas totales	31
- Cuantificación de aminoácidos plasmáticos	32
III. METODOS ESTADISTICOS	34
IV. RESULTADOS	34
a) ANIMALES	34
b) HUMANOS	41
V. DISCUSION	47
VI. RESUMEN Y CONCLUSIONES	62
VII. BIBLIOGRAFIA	67
VIII. LISTA DE ABREVIATURAS	91

INTRODUCCION

La desnutrición sigue siendo el mayor problema de la salud pública para muchos de los países del tercer mundo. Según las regiones y según las circunstancias se presenta adoptando diferentes formas, tanto desde el punto de vista clínico como del biológico.

La relevancia del problema es mayor aún, si se considera que aquellos niños que sobrevivan a un cuadro clínico de desnutrición grave, presentan secuelas en el desarrollo psicomotor, siendo los más documentados los problemas de aprendizaje y comportamiento, con importantes consecuencias humana, sociales y económicas (1-10).

La desnutrición es un estado patológico, inespecífico, sistémico y potencialmente reversible, que se origina como resultado de la toma inadecuada de alimento o como resultado de la incapacidad de utilizar por las células del organismo los nutrientes esenciales; que se acompaña de variadas manifestaciones clínicas de acuerdo a factores ecológicos y que reviste diversos grados de intensidad (11,12).

Muchos estudios científicos han intentado atribuir las alteraciones de la desnutrición sólo a la falta de alimento o asignar una parte a la falta de alimento y otra al medio ambiente. Sin embargo la interacción entre medio ambiente y nutrición es compleja y difícil de separar (1-3, 5, 12-15).

Se sabe que para el desarrollo y crecimiento prenatal normal del organismo, se requiere la interacción feto-materna de factores tales como la integridad de las membranas feto-placentarias, la transferencia de nutrientes y la excreción de catabolitos a través de la placenta, además de los mecanismos de difusión y área de intercambio placentario, e interacción inmunológica y sanguínea del feto y la madre, que permitan una adecuada multiplicación y crecimiento celular (16-21). Aproximadamente un cuarto del peso del cerebro adulto (1200 g), esta presente al nacimiento (300 g) y tres cuartas partes a la edad de un año (900 g). Alrededor de un cuarto de las células cerebrales (neuronas, glia y otras) estimadas por la determinación de DNA, están presentes al nacimiento; a los seis meses presentan el 66% y al año el 90 a 95% del total de células (22). La mielina tiene un lento desarrollo, la mitad de los componentes de

la mielina se forman entre los 12 a 24 meses de vida post-natal. La formación de las proteínas cerebrales es lineal entre el sexto mes intrauterino y el segundo año de vida postnatal en el que la síntesis disminuye (22).

Cuando no se integra la interacción feto-materna de factores como: interacción inmunológica, hemostática y de los mecanismos de transferencia de nutrientes y excreción de catabolitos a través de la placenta (16-21), se origina un déficit del peso corporal en los niños al nacer. Si este déficit de peso corporal se ubica por abajo del percentil 10 de las curvas de crecimiento intrauterino en relación a la edad gestacional, a estos niños se les denomina pequeños para la edad gestacional o con desnutrición intrauterina (DIU) (23).

Los recién nacidos con DIU tienen diversas modificaciones del estado fisiológico normal, presentan una serie de alteraciones que son englobadas en estructurales, metabólicas y bioquímicas, cuyo grado de severidad esta en relación al inicio de la desnutrición durante la vida intrauterina. Si comienza en la etapa temprana de la gestación, el trastorno es la falta de división celular y si se presenta en

la última etapa, el crecimiento celular es el afectado (16, 17).

En forma esquemática, la patología de la desnutrición puede resumirse en dos formas: dilución y atrofia (12, 24-26). A ellos se agregan modificaciones en la función, que en la mayoría de las ocasiones no representan disfunción sino mecanismos de homeostasis puestos en juego por un organismo privado de nutrientes. Las alteraciones bioquímicas que ocurren en el niño desnutrido modifican el funcionamiento celular y orgánico. Las principales modificaciones bioquímicas descritas son a nivel general, trastornos en el metabolismo de carbohidratos, lípidos, proteínas, vitaminas, minerales y agua (27 -39).

Existen pocos estudios que han evaluado las alteraciones bioquímicas a nivel cerebral en los niños recién nacidos con desnutrición temprana (40-42). El análisis bioquímico cerebral se ha efectuado en niños que murieron y probablemente los más severamente afectados. Existe disminución del peso cerebral, también se encontró disminución del número de células determinado por la cuantificación del DNA, la cantidad de mielina esta reducida y la cantidad total de

las proteínas cerebrales no varía en relación con los recién nacidos con peso corporal normal (40-42).

Además en diversos estudios en animales en los que se ha inducido experimentalmente desnutrición pre y postnatal, se ha comprobado una disminución del peso de las gonadas y órganos accesorios de la reproducción (43), reducción del peso y alteraciones en la estructura, composición y función intestinal (44, 45), bajo contenido de DNA y RNA en el cerebro, hígado y riñón, disminución de la síntesis de mielina y sinapsis cerebrales (16, 17, 46-50).

La desnutrición, por lo tanto, es un trastorno de orden general que hace muy difícil su relación con alteraciones funcionales sobre sistemas cerebrales específicos. La búsqueda de alteraciones sobre sistemas cerebrales con función específica causados por la desnutrición temprana, es el punto de partida para la mejor comprensión de sus efectos sobre la función neuronal y cerebral. Evidencias experimentales han comprobado que un sistema neuronal específico que se altera en el cerebro de ratas con desnutrición durante el desarrollo, es el sistema serotoninérgico (51-55).

En la rata el sistema serotoninérgico se localiza en el tallo cerebral, está compuesto de nueve grupos de neuronas, las cuales se denominan con la letra B y son enumerados del 1 al 9 (56-60). El grupo B 1, se localiza dentro del núcleo del raphe pallidus, alrededor de la superficie medial y ventral del haz piramidal; B 2 esta en el raphe obscurus; B 3 es más anterior que B 1 y también esta rodeado por el haz piramidal. El grupo B 4 es pequeño y esta localizado abajo del cuarto ventrículo y en la parte dorsal del núcleo vestibular y del núcleo del nervio Abducens. Los grupos 5 y 6 estan localizados dentro del núcleo pontis. En el cerebro medio los grupos B 7 y B 8, también ocupan la posición media del núcleo dorsal y raphe medio. El grupo B 9 esta localizado ventral y lateralmente alrededor del Lemniscus medial. Las prolongaciones axónicas de estos grupos de neuronas se dirigen a diferentes áreas del sistema nervioso central (SNC); los grupos de neuronas serotoninérgicas B 1, B 2 y B 3, inervan a la médula espinal en el cuerno ventral y la columna lateral simpática. El cerebelo recibe inervación principalmente de los grupos B 7 y B 8, pero también del B 5 y B 6. Los grupos B 7 y B 8 inervan la mayor parte de todas

las áreas del cerebro anterior. Entonces, lesiones de estos dos grupos de neuronas causan una disminución de la concentración de serotonina cerebral (5-HT), en esta región (61). Por métodos histoquímicos ha sido posible describir las fibras nerviosas que inervan el cerebro anterior, desde el núcleo del cerebro medio, el haz medial del cerebro anterior asciende hacia el fornix, septum y otras áreas del cerebro. Una vía ascendente medial inerva al hipotálamo y al área preóptica, esta vía se origina de los grupos neuronales B 5, B 6, B 7 y B 8. La vía ascendente lateral inerva áreas corticales y esta vía se origina de los núcleos B 7, B 8 y B 9. Existe un haz lateral que inerva principalmente el sistema motor extrapiramidal también deriva de los grupos B 7, B 8 y B 9. Los núcleos del raphe del cerebro medio también inervan la línea de células endoteliales del ventrículo (60).

También se ha descrito la existencia y distribución de grupos neuronales serotoninérgicos por técnicas de inmunohistoquímicas, usando anticuerpos antiserotonina, en el encéfalo de fetos de rata y de humano desde las 15 a 27 semanas de edad gestacional (62-64).

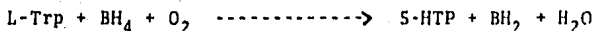
Por evidencias experimentales se ha concluido que la 5-HT, reúne todos los requisitos para ser considerada un neurotransmisor (65-67). Participa en diversas funciones del SNC: durante la embriogénesis y etapas posteriores de maduración cerebral, parece tener un importante papel en el crecimiento y diferenciación neuronal (68-71). Además se ha relacionado a otras funciones cerebrales como la regulación de los ciclos de sueño y vigilia (72,73); de impulsos nociceptivos (74-77); de la termoregulación (78, 79); del comportamiento alimentario (80,81) y sexual (82), de la liberación de hormonas hipofisarias (83); se ha relacionado también con diferentes aspectos de la conducta psicoemocional (82, 84-87) y algunos tipos de comportamientos operante (88). A nivel celular está involucrada en la regulación de la actividad de la $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa o bomba de $\text{Na}^+ \text{K}^+$ (53, 54, 89-92). Todos estos aspectos funcionales son a través de grupos neuronales que tienen sistemas de receptores específicos a este neurotransmisor (93-97).

Por todo lo anterior se concluye que sus alteraciones tempranas pueden afectar profundamente el desarrollo cerebral. Durante la maduración del cerebro de ratas con

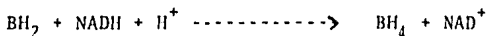
desnutrición temprana el metabolismo de 5-HT se encuentra alterado (51, 53-55) y sus niveles aumentados, este aumento esta probablemente ocasionado por una elevación de su precursor que es el L-triptofano plasmático libre (Trp) (98-103). Existen evidencias experimentales que apoyan una relación entre variaciones nutricionales, el Trp plasmático libre y la síntesis de 5-HT cerebral. Experimentos efectuados en ratas sometidas a períodos de ayuno corto y prolongado, la fracción libre del Trp plasmático se eleva y en el cerebro aumenta la concentración de dicho aminoácido y la síntesis de 5-HT (104-106). Por otra parte en animales normales a los que se han administrado cargas de Trp a dosis de 50 a 150 mg/kg, por vía intraperitoneal, se observa una elevación de la fracción libre del Trp plasmático y del Trp y 5-HT cerebral (54, 92, 107). Por último cuando se administran suplementos de Trp a ratas durante la gestación aumenta en el cerebro de sus crías la concentración de 5-HT y la actividad de la enzima triptofano 5-hidroxilasa (54, 92), (L-triptofano 5-monoxigenasa, EC 1.14.16.4.6, T5-H) (108-110).

El Trp plasmático libre pasa al cerebro y una vez captado por las neuronas serotoninérgicas, es hidroxilado

en la posición cinco por la enzima T5-H, para formar el 5-hidroxitriptofano (5-HTP) (111, 112). La enzima T5-H representa el paso limitante regulador de la síntesis del neurotransmisor, cataliza la inserción de un átomo de oxígeno molecular en el sustrato orgánico, en tanto que el otro átomo es reducido a agua, esta reacción requiere de un cofactor que es la tetrahidrobiopterina (BH_4), que dona electrones para reducir el oxígeno para la formación del oxhidrilo (113, 114), la ecuación general de la reacción es:



La reducción del quinonoide dihidrobiopterina (BH_2) es llevada a cabo por la enzima dihidropterina reductasa, dependiente de piridin nucleótido según la siguiente reacción (115).



Una vez que es sintetizado el 5-HTP, de inmediato es descarboxilado por la enzima 5-hidroxitriptofano descarboxilasa, para producir la 5-hidroxitriptamina (serotonina, 5-HT). La enzima es específica y difiere de las otras

enzimas descarboxilantes de los aminoácidos aromáticos, ya que su actividad enzimática es diferente a la de la DOPA-descarboxilasa. Tiene un pH, temperatura, concentración óptima del sustrato y un patrón de desarrollo específico para la enzima (116). También difiere por su localización a nivel celular, la DOPA-descarboxilasa se encuentra predominantemente en la fracción soluble o microsomal, mientras la 5-hidroxitriptofano descarboxilasa permanece asociada a la fracción sinaptosomal (117, 118).

La 5-HT cerebral sintetizada se almacena en vesículas sinápticas que se encuentran en las terminaciones nerviosas serotoninérgicas, estas vesículas sinápticas varían en forma y tamaño según su localización. Recientemente se ha descrito en varias partes del SNC terminales no sinápticas. Este tipo de terminales le confiere también a la serotonina un papel de neuromodulador (119).

La regulación de la síntesis de 5-HT en el SNC, depende de los siguientes factores: la concentración extracelular de Trp, la actividad neuronal, que a su vez

puede influir a la actividad de la T5-H, así como un mecanismo de autoregulación de la propia serotonina (110). Otro aspecto importante involucrado en la regulación de la síntesis de 5-HT, es el Trp plasmático. El Trp es un aminoácido esencial, por lo tanto se obtiene de las proteínas de la dieta, se conocen dos fracciones del Trp plasmático, una de ellas unida a albúmina y la otra libre. Una parte del Trp procedente de la dieta se utiliza en diferentes vías metabólicas, entre estas se encuentra la vía del ácido cinurénico, nicotínico y otra parte en la síntesis de proteínas (120). Otra porción menor del Trp tiene la función especial de servir como precursor de la síntesis de 5-HT cerebral (98-103).

La relación del Trp unido a albúmina con la fracción libre del aminoácido, determina la disponibilidad de esta última fracción para su paso a través de la barrera hematoencefálica (BBB) (100-102, 121), por un mecanismo de transporte activo (122, 123), que está mediado por un sistema de acarreador membranar. Posiblemente aminoácidos como la fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr), Leucina (Leu), Isoleucina (Ile) y valina (Val), compiten con el Trp por el mismo sistema de transporte a nivel de la BBB, para

su paso al cerebro (124-126). Esta competencia tendría también importancia fisiológica para regular las concentraciones del Trp cerebral y para la síntesis de la 5-HT en el SNC. Cualquier factor que altere estos posibles mecanismos reguladores del Trp plasmático, altera por lo consiguiente la disponibilidad del sustrato para la síntesis de 5-HT cerebral.

Estudios en ratas con desnutrición temprana, han demostrado cambios en el metabolismo serotoninérgico, como resultado de la restricción proteínico-calórica a las madres antes de la concepción y que se continua durante la lactancia. La concentración de 5-HT y el ácido 5-hidroxiindolacético (5-HIAA), se encuentran elevados (55, 98, 99), como consecuencia de un posible aumento de la fracción libre del Trp plasmático (98, 102, 105).

En humanos no se conoce si la desnutrición temprana ocasiona alteraciones del metabolismo serotoninérgico. Los niveles plasmáticos de la fracción libre del Trp pueden ser un parámetro útil como indicador indirecto del metabolismo de la serotonina cerebral. La hipótesis de este trabajo consiste en que los recién nacidos con desnutrición

intrauterina tienen un aumento de la síntesis de serotonina cerebral a través de la elevación de la fracción libre del Trp plasmático.

Para probar dicha hipótesis se proyectó el presente estudio en grupos de recién nacidos con desnutrición gestacional y de controles normales, en los que se determinó el Trp plasmático libre, unido a albúmina y total. También se determinaron aminoácidos neutros para conocer su posible relación con la fracción libre del Trp plasmático. Así como otros aminoácidos del plasma no relacionados con la síntesis de 5-HT, como control.

En forma complementaria se diseñó un estudio experimental en fetos de ratas con dos tipos de desnutrición intrauterina, producida, una por restricción proteínica-calórica a las madres gestantes y otra por ligadura de una de las ramas de la arteria uterina y sus controles normales. En el modelo animal se determinaron los parámetros relacionados a la biosíntesis de la 5-HT en el cerebro, no medibles en los recién nacidos humanos como son: la actividad de la enzima limitante TS-H, la concentración del sustrato Trp y del neurotransmisor 5-HT, en el cerebro fetal y durante el período postnatal inmediato.

MATERIAL Y METODOS

1. ESTUDIO EXPERIMENTAL

En el presente proyecto fueron seleccionadas, ratas blancas, cepa Wistar, femeninas, nulíparas, con peso aproximado de 200 g. Las ratas fueron adaptadas durante dos semanas a las siguientes condiciones ambientales: temperatura $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, períodos de luz y oscuridad de 12 h; el período de luz de 07.00 a 19.00 h y el de oscuridad de 19.00 a 07.00 h, la manipulación y el ruido fueron mínimos, la humedad relativa osciló entre 50 y 60 por ciento. Durante este período de adaptación las ratas fueron alimentadas con un régimen nutricional ad libitum tanto de agua como de alimento (purina chow), cuya composición de nutrientes es a base de 23% de proteínas, 4.5% de grasas, 45.5% de carbohidratos, 9% de cenizas, 6% de fibras, 12% de humedad, vitamina B 12, riboflavina, levadura seca de cerveza, pantotenato de calcio, colina, ácido fólico, vitamina E, tiamina, niacina, vitamina A, vitamina D, 0.5% de roca fosfórica, 0.5% de sal yodada, 0.75% de citrato de amonio, 0.2% de sulfato de maganeso y trazas de óxido de manganeso, carbonato de cobalto, óxido cúprico, óxido

de zinc.

Al término del período de adaptación las ratas fueron divididas en los siguientes grupos experimentales: El primer grupo lo formó el grupo control de alimentación (C), el cual recibió un esquema nutricional a base del mismo alimento (purina chow) y agua ad libitum. El segundo grupo lo constituyó ratas con desnutrición protéínico-calórica (D), a este grupo de ratas se les restringió el alimento al 50% del consumido por las ratas del grupo control en 24 h y se permitió el agua a libre demanda. En ambos grupos experimentales el esquema nutricional se mantuvo durante dos semanas y al término de este período las ratas de ambos grupos se cruzaron con machos alimentados a libre demanda.

Durante el período de gestación los animales de ambos grupos experimentales, se mantuvieron bajo las mismas condiciones ambientales y nutricionales.

Al séptimo día de gestación, se formó un tercer grupo de ratas proveniente del grupo de ratas control, con alimentación normal, a las cuales bajo anestesia general con pentobarbital sódico a dosis de 40 mg/kg de peso, administrado

por vía intraperitoneal, se les practicó laparatomía para ligar la rama derecha de la arteria uterina, con el propósito de producir disminución del volumen sanguíneo y del aporte de nutrientes a los embriones en crecimiento en el cuerno uterino homolateral (sólo queda irrigado minimamente por ramas de la arteria ovárica) (127), los productos de éste grupo con desnutrición intrauterina formaron el grupo L. La rama izquierda de la arteria uterina no se ligó y los productos provenientes de ese lado del útero constituyeron el grupo control (LC), del grupo L.

En el día 17, 19, 21 de gestación se les realizó operación cesárea, bajo anestesia general con pentobarbital sódico a la misma dosis empleada previamente, por vía intraperitoneal, a una parte de las madres de los grupos D, C y L. Los fetos obtenidos in situ, se pesaron, se les determinó edad gestacional midiendo la longitud céfalosacra (128) y de inmediato se les disecó el cerebro sin el cerebelo se hizo un "pool" de tejido de 6 a 8 cerebros y se homogenizó en una solución fría apropiada para someterlo a los diferentes ensayos neuroquímicos.

A otra parte de las ratas gestantes de los diversos

grupos experimentales, se les permitió terminar el embarazo. Al nacimiento las crías de estas madres fueron mezcladas y redistribuidas al azar a diferentes madres del mismo grupo, para formar camadas de ocho individuos y con ello se disminuyeron las diferencias individuales y de camada. A las edades de 1, 2, 3 y 10 días de vida postnatal, se tomaron 3 a 4 crías de tres camadas diferentes de cada grupo experimental. Las crías se pesaron, se les midió la longitud céfalo-sacra y se sacrificaron por decapitación. De inmediato se les disecó el cerebro sin cerebelo, el cual también se pesó y se formó un "pool" de 3 a 4 cerebros, se homogenizó inmediatamente con una solución fría a 0-4°C, apropiada para cada ensayo neuroquímico.

El criterio de desnutrición que se utilizó fue que el peso corporal de las ratas estuviera significativamente menor al peso de las ratas controles, con un déficit mayor al 10% del peso corporal.

Las intervenciones quirúrgicas, la obtención y disección del tejido cerebral, siempre se realizaron entre las 09.00 a 11.00 h, con el objeto de disminuir al máximo las

variaciones circadianas.

En los grupos de ratas de este trabajo, se realizaron curvas de peso corporal, cerebral y de longitud céfalo-sacra; esta última y la identificación del tapón vaginal durante el período de cruce, sirvieron para determinar la edad gestacional.

II. HUMANOS

La muestra de 66 recién nacidos del presente trabajo fueron seleccionados en la sala de Neonatología del Hospital General de zona 27, del Instituto Mexicano del Seguro Social. Se formaron dos grupos de estudio, de acuerdo a la edad gestacional calculada por la fecha de la última menstruación y de la valoración de Ballard (129).

El primer grupo de niños, pretérmino, se constituyó por 19 recién nacidos de ambos sexos de 33 a 37 semanas de edad gestacional. Este grupo a su vez, se dividió en dos subgrupos; uno de 7 neonatos con peso corporal abajo del percentil 10 de las curvas de crecimiento intrauterino en relación con la edad gestacional, lo que se considera des-

nutrición intrauterina; un segundo subgrupo con 12 pretérminos, con peso corporal entre los percentiles 10 y 90 de las mismas curvas de crecimiento intrauterino, considerado como peso adecuado para la edad gestacional, este subgrupo sirvió como control.

El segundo grupo se constituyó por 47 recién nacidos de ambos sexos de 38 a 42 semanas de edad gestacional, llamado grupo de término. Este grupo también se dividió en dos subgrupos: el primero con 22 neonatos con desnutrición intrauterina y el segundo se formó de 25 neonatos con peso adecuado para su edad gestacional, grupo control.

Fueron excluidos del estudio aquellos pacientes que presentaron malformación congénita a nivel del SNC, infección intrauterina, asfixia perinatal y hemorragia pericintraventricular. También los recién nacidos de madres que presentaron cualquier otro tipo de patología durante el embarazo como son: colagenopatías, cardiopatías, alteraciones metabólicas, inmunológicas, renales, hematológicas, neurológicas, psiquiátricas. La desnutrición intrauterina de todos los pacientes fue de origen materno o placentario, pero sin anomalía intrínseca del producto.

A los recién nacidos de ambos grupos se les valoró los siguientes datos clínicos: Antecedentes maternos perinatales, tipo de obtención del producto, valoración de Apgar y Silverman (130, 131), datos antropométricos que incluyeron peso corporal, longitud, perímetro cefálico, sexo, tipo de alimentación y patología mediata e inmediata del neonato. Los recién nacidos de ambos grupos fueron alimentados con 150 ml/kg de peso en 24 horas de leche modificada en proteínas, diluida al 16%, que proporciona 20 calorías por cada 30 ml. Esta leche contiene 19 mg de Trp por cada 100 ml (132).

A la edad de 1, 15 y 28 días de edad gestacional se obtuvieron muestras de 3 ml de sangre por venopunción en tubos de borosilicato, que contenían 0.45 ml de una solución de anticoagulante ACD, compuesta de citrato de sodio 3.6 mg, ácido cítrico 9.9 mg y dextrosa 11 mg. El anticoagulante fue amortiguado con una solución de Tris acetato de sodio 0.5 M, pH 7.40. Además se agregó Pargilina 10^{-4} M y ácido cítrico al 5%. Las tomas de la sangre siempre fueron entre las 07.00 y 08.00 h, cuatro horas después de la última ingesta de leche.

De inmediato después de su obtención las muestras de sangre fueron enfriadas a 0-4°C. Aproximadamente una hora después fueron sometidas a centrifugación, 600 x g, 3 minutos, en una centrífuga Sorvall RC5C, refrigerada a 4°C, con este método se obtuvo el plasma rico en plaquetas. Se tomaron alícuotas de 0.1 ml para la determinación de Trp libre; 0.01 ml para Trp total; 0.3 ml para 5-HT; 0.1 ml para proteínas plasmáticas y de 0.5 ml para otros aminoácidos.

III. ENSAYOS BIOQUIMICOS.

1. ACTIVIDAD DE LA ENZIMA TRIPTOFANO 5-HIDROXILASA.

La actividad de la enzima T5-H, se determinó por el método espectrofluorométrico de Gal y Col. (133). El tejido cerebral se homogenizó a 1425 rpm, durante un minuto, en una solución amortiguadora de Tris acetato de sodio 50 mM, pH 7.6 más 10^{-3} M de mercaptoetanol en una relación 3:1 V/P; mediante un homogenizador Thomas de émbolo de teflón con 0.15 mm de tolerancia en su diámetro. El homogeneizado se centrifugó en una centrífuga Sorvall RC5C a 30,000 x g, 20

minutos a 4°C.

La pastilla obtenida fue descartada, se midió el volumen del sobrenadante como fuente de la actividad enzimática. La reacción se inició al agregar alícuotas del sobrenadante que contenían de 1 a 2 mg de proteínas a tubos de borosilicato que fueron previamente preparados con el siguiente medio de incubación: 2-mercaptoetanol 1 mM, pargilina 0.3 mM, 6-metil 5, 6, 7, 8-tetrahidrobiopterina (6-MPH₄) 0.16 mM, L-triptofano 0.088 mM, catalasa 10 microgramos, Tris acetato de sodio 50 mM, pH 7.6 para completar un mililitro del volumen final.

En cada ensayo se incluyeron: a) muestras del mismo volumen del sobrenadante incubado sin sustrato, para corregir por los 5-hidroxiindoles endógenos. b) muestras conocidas de 5-HT (100 ng), para determinar el porcentaje de 5-HT perdida durante todo el procedimiento bioquímico (estandar interno). c) tubos blancos sin la enzima para medir la fluorescencia inespecífica de los reactivos.

Después de 30 minutos de incubación a 37°C en un baño metabólico (Dubnoff), con agitación constante, la reacción

enzimática se paró por desnaturalización térmica de las proteínas a 100°C durante 5 minutos, la mezcla fue transferida a tubos de polipropileno, los tubos de la reacción enzimática se lavaron con un mililitro de agua bidestilada, la cual se añadió a la mezcla de incubación. Las proteínas desnaturalizadas se separaron por centrifugación en una centrífuga Sorvall RC5C a 7000 x g, durante 10 minutos a 4°C. 0.5 ml de éste sobrenadante fue transferido a tubos de borosilicato que contenían 0.1 ml de una solución de cisteína al 1%, se les añadió 1.15 ml de HCl 10 N, se agitó vigorosamente en un agitador Vortex y para obtener la fluorescencia se les agregó 0.5 ml de ortoftaldialdehído (OPT) al 0.004% P/V en HCl 10 N y se calentaron las muestras a 80°C durante 15 minutos.

Al enfriarse los tubos de la reacción enzimática a temperatura ambiente, la fluorescencia se midió en un espectrofotofluorómetro Aminco Bowman a 470 nm de emisión y 360 nm de activación. La actividad de la enzima fue expresada como la cantidad de 5-hidroxiindoles producidos en nanomoles por miligramo de proteína por hora (actividad específica).

2. CUANTIFICACION DE 5-HIDROXITRIPTAMINA.

La 5-HT cerebral se cuantificó por el método espectrofluorométrico descrito por Curzon y Green (134). El tejido cerebral se homogeneizó en HClO_4 0.4 N, más pargilina 10^{-4} M y ácido ascórbico al 5%, con un politrón Brinkmann Instruments, a velocidad de 5, durante diez segundos, el vástago fue lavado con un mililitro de agua bidestilada y un mililitro de HClO_4 0.4 N, el cual se agregó al homogenado. El homogenado fue enfriado a 4°C.

Aproximadamente 30 minutos después se sometió a centrifugación 3000 x g, 15 minutos en una centrífuga Sorvall RC5C refrigerada a 4°C. Del homogenado desproteínizado, la pastilla fue descartada y al sobrenadante se le adicionó 0.5 ml de una solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.01 M, pH 6.0; más una gota de indicador universal Merck con rango de pH de 4 a 10, se ajustó el pH del sobrenadante a 6 con K_2CO_3 al 4 N, se aforó a diez mililitros con agua bidestilada y permaneció en reposo durante 24 h a 4°C.

Después las muestras fueron centrifugadas a 3000 x g, 5

minutos en una centrífuga Sorvall RC5C a 4°C. El sobrenadante se pasó a través de columnas de resina de intercambio catiónico Bio Rex 70, 200 a 400 de malla, en forma de sodio. Las columnas de vidrio de 3.5 mm de diámetro y 9 cm de altura fueron montadas en una gradilla, se les colocó en la punta lana de vidrio; en agitación constante fueron llenadas con resina previamente lavada, a una altura de 1.5 cm, con una dimensión de 252.1 mm³, se eliminaron las burbujas de aire de la resina y las columnas se equilibraron a pH 6.1 con 3 ml de una solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.2 M. La 5-HT cerebral se separó al pasar el sobrenadante por las columnas de resina, las cuales fueron lavadas con 4 ml de agua bidestilada. El eluado se obtuvo con 1.5 ml de ácido acético N; del eluado se tomó 0.5 ml para cuantificación de la serotonina separada, el eluado fue transferido a tubos de borosilicato que contenían 0.05 ml de una solución de cisteína al uno por ciento, se les agregó 0.6 ml de HCl 12 N y la fluorescencia fue inducida al agregarles a los tubos 0.05 ml de OPT en metanol al 0.1%, la mezcla de la reacción se agitó vigorosamente y se calentó a 95°C durante 10 minutos.

En cada ensayo se incluyeron: a) una cantidad conocida

de 5-HT como estandar interno, así como a la resina para determinar su rendimiento. b) además se incluyó una curva estandar de 5-HT sin pasar por las columnas. c) tubos blanco, los cuales fueron hervidos con todos los componentes de la reacción menos OPT, el cual se agregó a los tubos al enfriarse a temperatura ambiente. La fluorescencia se midió en un espectrofotofluorómetro Aminco Bowman a 360 nm de excitación y 485 nm de emisión. La concentración de 5-HT cerebral fue expresada en ng por gramo de tejido húmedo.

La resina de intercambio catiónico Bio Rex 70, de 200 a 400 de malla en forma de sodio se preparó en la forma siguiente (135), se lavó en agitación constante en todos los pasos 70 gramos de resina (peso húmedo), cuatro ocasiones con 250 ml de agua bidestilada, 15 minutos en cada lavado; 4 ocasiones con NaOH N, una hora en cada lavado y 5 veces con 250 ml de agua bidestilada, la resina se dejó toda la noche con la última agua del lavado. Al otro día la resina se lavó una ocasión con 250 ml de agua bidestilada, el pH del sobrenadante fue aproximadamente de 9, después se lavó una ocasión con 170 ml de HCl N en etanol V/V durante 4 horas, se enjuagó 4 veces con 250 ml de agua bidestilada

se dejó la resina con el último enjuague por 24 horas, el pH del sobrenadante fue aproximadamente de 3. Al día siguiente agitando se agregó NaOH N para alcanzar en el sobrenadante un pH entre 8 a 9, se decantó y se lavó dos veces con 250 ml de metanol en agua 60% V/V, el primero durante una hora y el segundo toda la noche. Por último la resina se lavó 4 veces con 250 ml de agua bidestilada y 4 ocasiones con una solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.1 M, pH 6.5. La resina se almacenó en refrigeración a 8°C en una solución amortiguadora de fosfato de sodio.

La 5-HT plasmática se separó del plasma rico en plaquetas y se cuantificó con el mismo procedimiento descrito, la concentración de 5-HT del plasma se expresó en microgramos por mililitro.

3. DETERMINACION DE TRIPTOFANO.

El Trp plasmático se determinó en sus formas libre y total, la diferencia entre estos dos se consideró el Trp unido a albúmina. El método empleado consistió en obtener un ultrafiltrado plasmático, el cual se logró al pasar

0.1 ml de plasma a través de membranas centriflo Amicon CF 50 A. Aproximadamente una hora antes de usar las membranas de ultrafiltración, estas fueron colocadas en agua bidestilada y el exceso de agua después de este período se removió al centrifugar los conos a 600 x g, 5 minutos a 4°C. De inmediato las membranas con el plasma se taparon con papel parafilm, con una jeringa se les extrajo el aire con el propósito de disminuir la cantidad de CO₂. El tiempo de centrifugación empleado para obtener la fracción libre del Trp fue de 60 segundos a 1800 x g en una centrífuga Sorvall RC5C a 4°C. Los cambios del pH plasmático se evitaron agregando a las muestras de sangre una solución amortiguadora de Tris acetato de sodio 0.5 M, pH 7.4, a diferencia de Hijikata y Col. (136), quienes controlaron los cambios de pH burbujeando por 30 segundos la muestra con una mezcla de gases compuesta de CO₂: N₂, 0.05 y 0.95% respectivamente. Se tomaron alícuotas de 0.01 ml del ultrafiltrado y del plasma total, en donde se cuantificó la fracción libre y el total del Trp por el método espectrofluorométrico de Denkla y Dewey, modificado por Bloxam y Warren (137, 138). A las alícuotas se les agregó 2 ml de ácido Tricloroacético (TCA) al 10% P/V, se centrifugaron a 12,000 x g, en una centrífuga Sorvall RC5C, 10 minutos a 4°C, se

transfirió el sobrenadante a tubos de tapa, se les adicionó 0.2 ml de formaldehído al 2% V/V, y la fluorescencia se indujo al agregarles 0.1 ml de FeCl_3 $6 \times 10^{-3}\text{M}$ en TCA al 10% P/V. La mezcla se agitó y se calentó una hora a 95°C . En cada ensayo se incluyó una curva estandar de 0 a 2 nmol de Trp. Al enfriarse los tubos de la reacción a temperatura ambiente la fluorescencia se midió en un espectrofluorómetro Aminco Bowman a 373 nm de excitación y 452 nm de emisión. La concentración tanto de la forma libre y total de Trp fue expresada en $\mu\text{mol/l}$.

Para cuantificar el Trp cerebral, el tejido se homogeneizó a 1425 rpm durante 30 segundos, en una solución fría de TCA al 12% P/V, con un homogeneizador Thomas de émbolo de teflón con 0.15 mm de tolerancia en su diámetro. El homogeneizado permaneció en reposo de 4°C , aproximadamente 30 minutos, del sobrenadante se tomaron 0.05 ml y se les agregó 2 ml de TCA al 10% P/V, se centrifugó a $12,000 \times g$, 10 minutos en una centrifuga Sorvall RC5C a 4°C . Se tomó el sobrenadante y se cuantificó el Trp cerebral por el método fluorométrico ya descrito (137, 138). La concentración del Trp cerebral fue expresada en $\mu\text{g/g}$ de tejido cerebral húmedo.

4. DETERMINACION DE PROTEINAS TOTALES.

Las proteínas tisulares y plasmáticas fueron cuantificadas mediante el método espectrofotométrico ya descrito por Lowry y Col. (139), usando albúmina bovina como estandar. El plasma y el tejido cerebral se diluyeron 40 veces, de esta dilución se tomaron alícuotas de 0.1 ml, en ellas se inició la reacción al agregarles 0.5 ml del reactivo A, que este consta de los siguientes componentes: 0.5 ml de CuSO_4 al uno por ciento, 0.5 ml de Tartrato de sodio y potasio al 2% en 50 ml de Na_2CO_3 al 2% diluido en NaOH 0.1 N. La mezcla de la reacción se agitó vigorosamente y se dejó en reposo a temperatura ambiente, después de 10 minutos se agregó 0.05 ml de reactivo B: el reactivo B es reactivo de Folin diluido 1:1 con agua bidestilada V/V; la muestra se agitó y a los 30 minutos se midió el color en un espectrofotómetro Varian DM 590 a 700 m μ .

En cada ensayo se incluyó una curva estandar de cantidades conocidas de albúmina y las concentraciones de proteínas plasmáticas y cerebrales se expresaron en gramos por decilitro de plasma y en miligramos por gramo de tejido húmedo respectivamente.

5. CUANTIFICACION DE AMINOACIDOS PLASMATICOS.

Los aminoácidos en el plasma se determinaron en un analizador Beckman Modelo System 6300. Alícuotas de 0.5 ml de plasma fueron desproteinizados con 2.5 ml de ácido sulfosalicílico al 3% P/V, después se sometieron a centrifugación 12,000 x g, en una centrifuga Sorvall RCSC, 10 minutos a 4°C. La pastilla se descartó y el sobrenadante fue liofilizado por medio de una liofilizadora Vertis modelo 10-145 MR-8A, el liofilizado se almacenó a -20°C, hasta su análisis bioquímico.

El liofilizado fue resuspendido en un mililitro de una solución amortiguadora de citrato de sodio (STD de Beckman), pH 2.2, del que una alícuota de 0.1 ml se aplicó al analizador de aminoácidos. El analizador fue calibrado a las siguientes condiciones estandar: 1) tiempo de succión del bombeo de la muestra 0.92 min. 2) factor del flujo de tiempo volumen 343.4. 3) factor que mide el volumen de bombeo por tiempo 34.9. 4) factor de límite de seguridad de la presión del flujo 2500 libras/pulgada. 5) factor de limpieza de la columna con soluciones amortiguadoras, para evitar residuos de ninhidrina. 6) tiempo de limpieza del

sistema de bombeo y reactivos, 10 minutos. 7) velocidad de cambio de temperatura del sistema para las soluciones amortiguadoras y reactivo de ninhidrina.

La muestra se pasó por una columna de 25 cm de longitud con resina de intercambio catiónico, de 5 micrones de tamaño. Para separar los aminoácidos libres del plasma se utilizaron tres sistemas diferentes de tiempo y temperatura, que son 50°C por 35.5 min, 65°C por 2 min, y 70°C por 15.6 min, además se eluyó con tres diferentes soluciones amortiguadoras de citrato de sodio pH 3.25, 4.10, y 5.26 respectivamente. El desarrollo de la reacción fue detectado por un sistema programado Hewlett Packard para determinar la concentración de aminoácido libre en el plasma, expresado en nanomol por alícuota de la muestra empleada. Además se incluyó norleucina como estandar interno que sirve como punto de referencia para los diversos cálculos de las ondas generadas en el aminograma. La concentración de los aminoácidos plasmáticos fue expresada en $\mu\text{mol/l}$ (140).

METODOS ESTADISTICOS

Los resultados obtenidos en los experimentos en animales fueron comparados mediante el análisis de varianza de dos variables, que demostró homogenidad de las varianzas de los grupos y la diferencia entre grupos se determinó con la prueba t de Student para datos independientes con un límite del 95% de significación (141).

Los resultados en humanos, también fueron comparados entre grupos y a las diferentes edades estudiadas con la prueba t de Student para grupos de datos independientes, con el mismo nivel de significación (141). Además se determinó el índice de correlación de Pearson entre 5-HT/ Trp libre, aminoácidos neutros/ Trp libre, cada uno de los aminoácidos neutros (Phe, Leu, Ile, Val, tyr)/ Trp libre (141).

RESULTADOS

I. ANIMALES.

En la figura 1 y 2, se muestran las curvas de crecimiento corporal en los grupos de ratas con DIU (D y L), se obser-

vó una disminución significativa ($p < 0.05$) del peso corporal a partir del día 17 de gestación hasta el décimo día de vida postnatal, con déficit de peso de 63, 50, 43% a los 17, 19, 21 días de gestación y de 27, 27, 35 y 55 % a las edades de 1, 2, 3 y 10 días de vida postnatal en el grupo D y de 60, 41, 41% a los 17, 19, 21, días de vida intrauterina y de 23, 19.4, 28 y 46% a las edades de 1, 2, 3 y 10 días de vida postnatal en el grupo L, comparado con el peso de los grupos de ratas controles sin déficit de peso corporal, grupos C y CL.

Con respecto a las curvas de crecimiento de la longitud céfalo-sacra, en la figura 3 A se grafica el grupo D, se observó un incremento total de 67.8% desde el día 17 de gestación hasta los 10 días de vida postnatal, con un retraso significativo ($p < 0.05$) de la longitud céfalo-sacra a partir del día 21 de gestación hasta el décimo día de vida postnatal, el déficit fue de 36% al día 21 y de 14.3, 19.6, 19.3, 12.6% a las edades de 1, 2, 3 y 10 días de vida postnatal respectivamente en comparación con el grupo de ratas control sin déficit nutricional, grupo C. También en el grupo de ratas con desnutrición gestacional por ligadura de arteria uterina grupo L, se observó una disminución significativa ($p < 0.05$)

de la longitud céfalo-sacra a partir del 21 días de gestación, hasta el día 10 de vida postnatal con un déficit de 23.8% al 21 día de gestación y de 12.8, 13.1, 17.1 y 6% a las edades de 1, 2, 3 y 10 días de vida postnatal en relación con el grupo LC, como se ve en la figura 3B.

En las figuras 4 y 5, se muestran los patrones de crecimiento pre y postnatal del cerebro en los grupos D y L, se observó una disminución significativa ($p < 0.05$) del crecimiento desde el 17 día de gestación al décimo día de vida postnatal, el déficit en el peso cerebral fue de 13.1, 16.3, 37% a los 17, 19, 21 días de gestación y de 28.4, 41.1, 15.8 y 19.3% a los días 1, 2, 3 y 10 días de vida postnatal en el grupo D y de 11.9, 37.7, 25.8% a los 17, 19 y 21 días de vida intrauterina y de 25.8, 40, 21.5, 18.5% a las edades de 1, 2, 3 y 10 días postnatales en el grupo L, con respecto a los grupos de ratas sin déficit del peso cerebral, C y LC.

En la tabla 1, se pueden observar los incrementos del peso corporal, peso cerebral y longitud céfalo-sacra en los grupos de ratas con desnutrición gestacional y controles. En relación a los incrementos del peso corporal en los grupos D y L, fueron de 86 y 83.8% durante el período prenatal y de 34.7 y 40.1% en el período postnatal. Además se observó que el incre-

mento total del peso corporal durante todo el período estudiado fue aproximadamente 90% en los grupos desnutridos y controles. En lo concerniente al incremento del peso cerebral en los grupos D y L, se observó un incremento de 18.6 y 17.2% en el período prenatal y un incremento del 74.8 y 74.6% durante el período postnatal. También se observó que el incremento total del peso cerebral en ambos períodos fue aproximadamente 84% en los grupos, tanto desnutridos como controles. Con respecto a los incrementos de la longitud céfalo-sacra en los grupos D y L, se observó de 39.5 y 37% en el período prenatal y de 18.4 y 24% respectivamente en el período postnatal. El incremento total de la longitud céfalo-sacra fue aproximadamente de 67% en ambos grupos de ratas con desnutrición gestacional y controles.

En los grupos de ratas con desnutrición intrauterina D y L, se observó una disminución del índice peso cerebral/peso corporal desde el día 17 de gestación al primer día de vida postnatal de 0.168 y 0.144 a 0.026 y 0.025 y a partir del día dos al décimo de vida postnatal aumentó el índice de 0.027 y 0.026 a 0.067 y 0.060, como se puede ver en la tabla II. También en los grupos C y LC, se observó el mismo patrón, con una disminución durante la etapa prenatal de 0.071 y 0.064 a 0.026 y 0.026, y un incremento en la vida postnatal de 0.026 a 0.037 y 0.040. El índice peso cerebral/peso corporal siempre fue mayor en los grupos D y L que los

controles C y LC.

El patrón de desarrollo de las proteínas cerebrales en los grupos D y L, se observó un retraso significativo de la concentración ($p < 0.01$), desde el período prenatal hasta los 10 días de vida postnatal, como se ilustra en las figuras 6 y 7, comparados con los grupos C y LC, el déficit fue 44, 36, 43% a los 17, 19, 21 días de gestación y de 32, 47, 43 y 31% en la vida postnatal en el grupo D y de 28, 29, 35% durante la vida prenatal y 30, 32, 33 y 24% a las edades de 1, 2, 3 y 10 días de vida postnatal en el grupo L. Además se observó que la concentración de proteínas cerebrales en las ratas de los grupos D y L a la edad de dos días de vida postnatal, fue alcanzado por los grupos C y LC a la edad prenatal de 19 días.

En la figura 8A, se muestra la curva del desarrollo de la concentración del Trp cerebral en el grupo C, se observó en el período prenatal una disminución de 12.6 $\mu\text{g/g}$ de tejido en el día 17, a 10 $\mu\text{g/g}$ de tejido al día 21 de la gestación, la disminución se hace más evidente a partir del nacimiento hasta los 10 días de vida postnatal, de 9.3 $\mu\text{g/g}$ baja a 2.8 $\mu\text{g/g}$ de tejido cerebral. También en el grupo D, se observó un patrón semejante de desarrollo pre y postnatal de la concentración de Trp cerebral, disminuyó de 14.9 $\mu\text{g/g}$

a 13.7 $\mu\text{g/g}$ en la etapa prenatal, sin embargo tanto en el período prenatal como en el período postnatal, su concentración fue siempre significativamente mayor ($p < 0.05$), en comparación al grupo C. El grupo de ratas con desnutrición por ligadura de arteria uterina el patrón de la curva de desarrollo de la concentración del Trp cerebral fue muy parecido en el período pre y postnatal a la concentración del Trp en el cerebro del grupo D, como se ilustra en la figura 8B. También se observó que la concentración del Trp cerebral siempre fue significativamente mayor ($p < 0.05$), en comparación al grupo LC.

En relación a la actividad específica de la enzima triptofano 5-hidroxilasa cerebral, enzima limitante para la síntesis del neurotransmisor, en la figura 9 se grafica la curva de desarrollo pre y postnatal en el grupo C. Se observó aumento de 0.1 nmol/mg proteína/h a los 17 días de gestación a 0.2 nmol hasta los 21 días, estabilizándose y a partir del día 21 vuelve a aumentar hasta 0.3 nmol a los 10 días de vida postnatal, la actividad específica de la enzima a esta edad representó el 30% de la actividad enzimática en el cerebro adulto (1 nmol). En la misma figura se ilustra el patrón de desarrollo de la actividad específica de la T5-II en el grupo D, el desarrollo fue ascendente de 0.2 nmol/mg proteína/h a los 17 días de gestación a 0.3 nmol a los 21 días y

de 0.3 nmol al nacimiento se incrementó a 0.5 nmol a los 10 días de vida postnatal. Además se aceleró la actividad de la enzima desde el período prenatal, alcanzando a los 21 días de gestación el nivel de actividad que se observó en los controles a los 10 días de vida postnatal. La actividad de la T5-H siempre estuvo significativamente elevada ($p < 0.01$) en el grupo D comparado con el grupo C.

En la figura 10 se muestran los patrones de desarrollo pre y postnatal de la actividad específica de la T5-H en los grupos L y LC. Las curvas son muy semejantes a los grupos D y C. La actividad de la enzima fue significativamente mayor en todas las edades estudiadas ($p < 0.05$) para el grupo L en comparación al grupo LC. También se observó que la actividad de la enzima en el grupo L, se aceleró en el período fetal, alcanzando a los 21 días de gestación el nivel de actividad enzimática que se observó en los controles a los 3 días de vida postnatal.

El desarrollo de la concentración del neurotransmisor, producto de la acción de la T5-H sobre el Trp cerebral, se ilustra en las figuras 11 y 12 para los grupos de ratas sin déficit nutricional, grupos C y LC: se observó un incremento de la 5-HT cerebral desde 72.5 ng/g de tejido a los 17 días de gestación hasta 207.9 ng a los 10 días postnatales en el grupo C y de 81.9 ng a los 17 días de gestación hasta 263 ng a los 10 días de vida postnatal para el grupo LC. En los

grupos de ratas con desnutrición gestacional D y L, se observó una aceleración en la curva de desarrollo del neurotransmisor, los niveles de serotonina cerebral alcanzados a los 21 días de gestación fueron observados en los controles a los 2 días de vida postnatal en el grupo C y al tercer día para el grupo LC. la concentración de 5-HT cerebral siempre estuvo significativamente más alta en los grupos desnutridos comparados con los grupos C, LC ($p < 0.05$)

II. HUMANOS

En la tabla III se observan los datos clínicos de los recién nacidos pretérmino de 33 a 37 semanas de edad gestacional, la muestra fue pequeña por la dificultad de concentrar recién nacidos con esta edad gestacional y DIU, la edad gestacional fue similar en ambos subgrupos, desnutridos y controles. En los dos subgrupos la muestra disminuyó debido a deserciones durante el seguimiento entre el nacimiento y el día 28 de edad postnatal. Por esta razón y porque las curvas de desarrollo antropométrico normal durante el periodo del recién nacido no muestran diferencias por el sexo en los parámetros estudiados, el análisis estadístico se realizó agrupando las medidas antropométricas obtenidas de ambos sexos. Como se ve en la tabla III, el peso corporal, la longitud y el perímetro cefálico fueron significativamente

menores ($p < 0.05$) en los recién nacidos pretérminos con DIU en comparación a los controles. En la tabla IV se puede observar los datos clínicos en el grupo de recién nacidos de término: no hubo diferencias en la edad gestacional entre los dos subgrupos, el peso corporal, la longitud y el perímetro cefálico fueron significativamente menores ($p < 0.01$) en los desnutridos comparados con los controles sin déficit nutricional. Excepto al día 28 de vida postnatal la longitud fue similar en ambos subgrupos.

Las tablas V y VI ilustran la relación peso-talla e índice de Miller en los grupos de recién nacidos tanto pretérmino como de término, se observó una disminución de la relación peso-talla, desde el nacimiento hasta los 28 días de edad postnatal, en los integrantes de los grupos con DIU, comparados con sus controles. En cuanto al índice de Miller, no existieron diferencias entre los dos grupos de recién nacidos desnutridos y controles.

Las tablas VII y VIII, ilustran la concentración de proteínas plasmáticas totales: se observó un aumento desde el nacimiento hasta los 28 días de edad postnatal en los recién nacidos controles, cuya tendencia fue menor en los desnutridos de ambos grupos. Además en los neonatos con antecedentes de DIU, la concentración de las proteínas plasmáticas fueron significativamente más bajas ($p < 0.05$), comparados con los controles, a las diferentes edades estudiadas.

La serotonina plasmática en los grupos de neonatos sin déficit nutricional, mostró un ascenso con la edad postnatal de 62 ng/ml al nacimiento a 123 ng/ml a los 28 días en el grupo pretérmino y de 59 ng/ml a 109 ng/ml en el grupo de término, el ascenso fue menor en los desnutridos desde el nacimiento hasta el día 15 de vida postnatal, de 52 ng/ml a 77 ng/ml y de 58 ng/ml a 66 ng/ml en los grupos pretérmino y de término respectivamente. En los neonatos desnutridos de término a partir del día 15 no hubo incremento, observándose en el grupo pretérmino desnutrido un descenso de 77 ng/ml a 42 ng/ml. No existió diferencia significativa hasta los 15 días de edad postnatal, pero a los 28 días se encontró significativamente más baja en los grupos desnutridos en comparación a sus controles ($p < 0.01$) como se puede ver en las tablas VII y VIII.

Uno de los parámetros más importantes que se determinó en el presente estudio fue la concentración de Trp plasmático, en sus fracciones libre y total, la diferencia entre estos dos se consideró el Trp unido a albúmina. En lo que respecta a la fracción libre, se observó en los grupos controles un aumento de su concentración en el plasma a partir del nacimiento hasta los 28 días de vida postnatal, en el grupo control de pretérmino fue de 9.16 ± 1.52 hasta 11.75 ± 1.25 $\mu\text{mol/L}$. En los neonatos de término el incremento fue de

10.12 \pm 1.26 $\mu\text{mol/l}$ a 14.5 \pm 1.51 $\mu\text{mol/L}$. Los recién nacidos pretérmino con DIU, al nacimiento tenían una concentración de Trp plasmático libre de 12.57 \pm 0.53 $\mu\text{mol/L}$, es decir significativamente más elevado que la del control de la misma edad ($p < 0.01$) y la mayor concentración alcanzada por los neonatos controles a los 28 días de edad. En este grupo de desnutridos pretérmino, la fracción libre del Trp continuó elevada a los 15 y 28 días de edad, en comparación con los controles de la misma edad ($p < 0.05$), ver tabla IX. En el grupo de recién nacidos de término desnutridos, la concentración de la fracción libre del Trp fue significativamente más elevada ($p < 0.01$), en todas las edades estudiadas, alcanzando 18.71 \pm 1.38 $\mu\text{mol/L}$ a los 28 días de edad, ver tabla X. Con respecto a la fracción unida a albúmina del Trp, fue significativamente menor ($p < 0.05$) en los dos grupos de desnutridos, comparados con sus controles de las mismas edades (tablas IX y X). En relación al Trp total se observó un aumento de la concentración en el plasma a partir del nacimiento hasta los 28 días de vida postnatal, en ambos grupos, desnutridos y controles, no existieron diferencias significativas a las diferentes edades estudiadas (tablas IX y X). La relación Trp libre/Trp total, se encontró aumentada en los dos grupos desnutridos y a las tres edades estudiadas (mismas tablas). En las figuras 13 y 14, se ilustra gráficamente la tendencia que siguieron las fracciones libre y unida a albúmina del Trp plasmático en el grupo pretérmino y de término respectivamente.

En las tablas XI y XII, se ilustra la concentración de aminoácidos neutros en el plasma, que según Fernstron y Wurtman (124-126), compiten con el Trp para su transporte al cerebro. No se observó en los dos grupos de desnutridos ningún cambio consistente a través de las edades estudiadas, en relación a sus controles sin déficit nutricional, las diferencias observadas fueron casi siempre en una sola edad, pero no se mantuvieron. En el grupo pretérmino desnutrido (tabla XI), se observó un aumento de la concentración de Ile, Leu, Tyr, Phe en relación a sus controles a la edad de 15 días ($p < 0.05$), que no se observó en el primer día y que al día 28 de vida postnatal disminuyó, siendo entonces la diferencia menor ($p < 0.05$). En el grupo de término (tabla XII), se observó que la Val es el único aminoácido neutro que se encontró disminuido al nacimiento y a los 28 días de edad postnatal ($p < 0.05$). Es interesante mencionar que en los grupos desnutridos, tanto pretérmino como de término, se observó una elevación de la concentración plasmática de los aminoácidos neutros, solamente a la edad de 15 días como se ilustra en las figuras 15 y 16 A. En las figuras 15 y 16 B, se pueden observar los patrones de desarrollo de los aminoácidos neutros en los grupos controles.

Otros aminoácidos no relacionados con el papel precursor del Trp en la síntesis de serotonina cerebral, tanto en sus concentraciones plasmáticas, como en sus curvas de desarrollo, no mostraron diferencias importantes. En los grupos

de recién nacidos con déficit nutricional, se observó un aumento de la alanina y lisina a los 15 días ($p < 0.01$) y una disminución ($p < 0.05$) de lisina y prolina a los 28 días de edad en el grupo pretérmino (tablas XIII y XIV). En los neonatos de término, se observó disminución de glutámico, prolina, alanina, glicina, cistina, lisina y arginina ($p < 0.05$), a los 28 días de vida, comparados con sus controles sin déficit nutricional, ver tablas XV y XVI. En las figuras 17, 18, 19 y 20 se muestran los perfiles que presentaron los otros ocho aminoácidos estudiados en el plasma de recién nacido con DIU (A) y sus controles (B).

En la tabla XVII, se muestra la relación Trp plasmático libre/aminoácidos neutros, que da una idea del predominio de una u otra fracción y su competencia por un transportador a través de la BBB, se observó que esta relación es siempre mayor a las diferentes edades estudiadas en el plasma de los recién nacidos desnutridos, pretérmino y de término que en los controles.

Por último la serotonina plasmática no correlacionó con el aumento observado del Trp plasmático en su fracción libre. El grupo de aminoácidos neutros (Val, Ile, Leu, Tyr, Phe) plasmáticos en los niños desnutridos presentó una correlación negativa con el Trp libre y no disminuyó en el período estudiado, encontrándose sólo modificaciones aisladas de algunos de ellos, como ya se mencionó.

DISCUSION

Algunos aspectos interesantes que la desnutrición produce durante su evolución surgen del presente estudio:

Nuestros datos de las diferentes medidas antropométricas en los recién nacidos humanos, pretérmino y de término, confirman datos de la literatura. La desnutrición produce una deceleración en el crecimiento y desarrollo físico (5, 13, 25, 142-147), esto constituye una manifestación universalmente observada, lo que justifica en parte la conocida clasificación de desnutrición durante la etapa pediátrica, basada exclusivamente en el déficit ponderal (11). En casos extremos de desnutrición se observa una verdadera detención del crecimiento, que cuando es intensa y prolongada, el retraso del desarrollo físico se convierte en regresión de algunas medidas antropométricas, lo que implica una disarmonía de los diversos mecanismos homeostáticos que regulan el crecimiento (148-152).

También se confirmó que el peso corporal es una medida antropométrica que se altera con más facilidad que la talla. Al reanudarse el crecimiento en estos niños desnutridos, por una adecuada terapia nutricional, cuanto más pequeños son, se acentúa la disminución en los incrementos diarios de peso y la talla, o sea que la edad de desarrollo óseo previamente alcanzada, no permite incrementos mayores (13, 142, 147, 150, 152).

Otras formas de obtener una somera y rápida información sobre el estado nutricional es mediante las relaciones peso en función de la talla e índice de Miller (153). Observamos en nuestro estudio que los niños pretérmino desnutridos conservan esta armonía corporal en relación al primer parámetro, lo que sugiere que estuvieron en juego diversos mecanismo maternos y fetales que evitaron una desproporción céfalo-corporal. Sin embargo cuando la desnutrición se prolonga, entonces los mecanismos homeostáticos son insuficientes para evitar dichas alteraciones (150-154). Como se observó en los niños de término desnutridos, la relación peso corporal en función de la talla, se ubicó abajo del percentil 10 de las curvas de crecimiento intrauterino en relación a la edad gestacional. En este grupo de neonatos sin embargo no se modificó el índice de Miller, lo que sugiere que existen mecanismos metabólicos prioritarios en el organismo que protegen hasta cierto límite al cerebro, lo que traduce en un menor déficit del crecimiento cerebral en relación al crecimiento del resto del organismo (142, 155, 156).

El uso de medidas antropométricas gruesas que evalúan la estructura cerebral son necesarias en la mayoría de los estudios en humanos vivos, porque el deterioro del tejido postmortem sobreviene rápidamente e impide una adecuada valoración del peso y tamaño cerebral. La medición del perímetro cefálico en los recién nacidos, es considerado un índice apro-

ximado del tamaño del cerebro (157-159). En nuestro estudio los niños desnutridos tuvieron menor perímetro cefálico que los niños normales, se confirma (142, 147) que la masa cerebral disminuye cuando la desnutrición es grave y prolongada. Estudios postmortem indican que tales medidas están alteradas y que los diferentes componentes cerebrales se modifican como son: disminución del peso del cerebro y cerebelo, menor cantidad de células nerviosas determinadas por la cuantificación de DNA, la cantidad de mielina está reducida, menor cantidad de mucopolisacáridos, degeneración de neuronas y proliferación de neuroglia (40 - 42, 160).

Las curvas de desarrollo antropométrico normal en los neonatos no muestran diferencias por el sexo en las medidas consideradas durante el primer mes de vida postnatal (132), por tal razón, la comparación estadística se hizo agrupando las obtenidas de ambos sexos.

Para valorar los posibles efectos fisiológicos y bioquímicos que la desnutrición temprana produce en los humanos sobre el desarrollo cerebral y ante la imposibilidad de realizar determinadas mediciones en humanos, se plantean modelos en animales, que reúnan condiciones fisiopatológicas semejante al humano. Estos modelos experimentales tienen en común la restricción de nutrientes en el animal en desarrollo. Ellos han permitido abordar las consecuencias anatómicas, fisiológicas y bioquímicas que produce la desnutrición gestacional sobre el

cerebro (127, 155, 161, 162). Nosotros utilizamos dos métodos experimentales para producir desnutrición en los fetos; una por restricción de nutrientes a las madres y otra por ligadura de la arteria uterina. También en estos modelos animales corroboramos, en los fetos de ambos grupos un retardo del crecimiento y desarrollo, que se tradujo en un déficit en las diferentes medidas antropométricas como son: peso corporal, longitud céfalo-sacra y peso cerebral. En los animales desnutridos observamos que los incrementos en estos parámetros son diferentes en las etapas prenatal y postnatal. El incremento del peso corporal fue mayor en la etapa prenatal que la postnatal en los desnutridos, en relación a los controles. Sin embargo es interesante mencionar que los desnutridos mostraron incrementos finales similares a los controles, por lo tanto se puede concluir, que a pesar de incrementos similares a los controles, persistió un déficit ponderal y una alteración de la composición corporal en los grupos desnutridos. Este déficit corporal no se recupera, a pesar de que los diferentes mecanismos metabólicos de compensación fetales y maternos, permiten continuar el crecimiento y desarrollo del feto durante la vida intrauterina (155).

Los incrementos de la longitud céfalo-sacra en los animales desnutridos fueron menores en la etapa prenatal que en la postnatal, en relación a los animales sin desnutrición, el incremento total de ambas etapas fue similar en ambos grupos, desnutridos y controles, indicando una vez más que se altera

la velocidad de desarrollo de este parámetro, pero persiste un déficit significativo en los grupos desnutridos. Dato que se puede observar en las curvas de desarrollo de la longitud céfalo-sacra, el deterioro de la talla se inició en la última parte de la vida intrauterina, lo que corrobora que cuando la desnutrición se prolonga, la deceleración de la talla se presenta.

Otra alteración importante que la desnutrición gestacional produce es sobre el crecimiento y desarrollo del SNC, durante este período el cerebro es particularmente vulnerable a modificaciones ambientales como la desnutrición, cuyo grado de severidad esta en relación inversa a su inicio durante la vida intrauterina. Cuando la desnutrición comienza en la etapa temprana de la gestación, el índice de división celular disminuye, si la desnutrición se prolonga, además de la disminución del número de células, también disminuye la concentración de proteínas por célula (16, 17, 155). Nuestros datos confirman tal situación, que durante la evolución de la desnutrición, existen alteraciones de la composición bioquímica cerebral, observamos que los animales desnutridos tuvieron menor concentración de proteínas cerebrales. Es posible que los mecanismos de compensación cerebral fueron insuficientes para corregir este déficit y sólo son capaces de permitir la síntesis mínima necesaria de proteínas para el desarrollo y crecimiento celular durante la vida intrauterina (150-154).

Además de los cambios generales, la desnutrición también es capaz de producir cambios metabólicos cerebrales más específicos. Uno de estos cambios metabólicos, es el que se ha comprobado para el sistema serotoninérgico en el cerebro de rata durante el desarrollo, se ha visto que la 5-HT cerebral se encuentra elevada, en diferentes tipos de desnutrición temprana, proteínica-calórica, proteínica, durante el desarrollo postnatal. Este aumento está probablemente ocasionado por una elevación en la fracción libre del L-triptofano plasmático, este aminoácido esencial es el precursor de la síntesis de serotonina cerebral (100-103). El paso del Trp al cerebro puede estar también influenciado por los niveles plasmáticos de otros aminoácidos neutros que según Fernstrom y Col. (124-126), éstos pueden competir con el Trp para unirse a un transportador de la BBB y disminuir su paso al cerebro.

En base a los resultados en animales antes mencionados, el interés de este trabajo consistió en estudiar en neonatos humanos desnutridos, la posible alteración del metabolismo serotoninérgico cerebral, a través de su precursor plasmático que es la fracción libre del Trp.

La hipótesis del presente estudio fue que los recién nacidos humanos con desnutrición intrauterina, tienen un aumento de la concentración de serotonina cerebral a través de la elevación de la fracción libre del Trp plasmático.

Los resultados de las determinaciones bioquímicas efectuadas en los neonatos humanos, corroboran dicha hipótesis, además los resultados obtenidos en el estudio complementario del cerebro de ratas desnutridas en la gestación, que es una condición experimentalmente similar a la de los recién nacidos humanos, muestran que la síntesis del neurotransmisor se encuentra acelerada. Existe en los recién nacidos desnutridos humanos un aumento significativo de la fracción libre del Trp plasmático. El grado de unión del Trp libre a la albúmina es la condición bioquímica que hace que aumente o disminuya su nivel plasmático. Por lo tanto, este mecanismo puede regular la cantidad de la fracción libre del Trp plasmático disponible para ser transportado a través de la BBB (122, 123), al tejido cerebral en donde es captado por las neuronas serotoninérgicas. En esta forma se estimula la síntesis del neurotransmisor. Esto último se confirmó con nuestros datos en el cerebro de ratas

desnutridas, que mostraron aumento de la actividad de la enzima limitante T5-H y un aumento del sustrato Trp y de la 5-HT; éste aumento del sustrato desencadena una aceleración de la síntesis del neurotransmisor, lo que se corrobora por un aumento de la actividad de la T5-H y la concentración de 5-HT.

La secuencia de estos resultados confirman, que los diferentes componentes bioquímicos de la vía metabólica serotoninérgica, Trp cerebral, actividad de la enzima T5-H y el neurotransmisor se encuentran aumentados y que existe una alteración de la regulación de la actividad metabólica de esta vía, ocasionada muy probablemente por una elevación de la fracción libre del Trp plasmático, secundario a una alteración del balance entre la fracción libre y la fracción unida a albúmina.

Miller y Col. (98) observaron que en ratas con desnutrición proteínica, existe cambios desde el nacimiento de la relación Trp plasmático libre/Trp unido a albúmina, en favor del primero, este cambio es debido a una baja molaridad de unión del Trp a la albúmina (98, 107). Interesantemente nuestros resultados obtenidos en el plasma de recién nacidos humanos con DIU, también presentan esta

alteración, con un aumento de la relación Trp libre/ Trp unido a albúmina, en favor de la fracción libre del Trp plasmático. Hasta donde sabemos este es el primer resultado en la literatura, que muestra la alteración del precursor de la síntesis de la 5-HT cerebral en el plasma humano de neonatos con desnutrición intrauterina. Los resultados en animales desnutridos, apoyan la posibilidad de que probablemente en el cerebro de los neonatos humanos con DIU, existe un aumento de la síntesis del neurotransmisor, secundario a un incremento de la fracción libre del Trp plasmático.

Algunos factores metabólicos que contribuyen al aumento de la fracción libre del Trp plasmático en el animal desnutrido pueden ser: la disminución de la concentración de albúmina circulante, así como el aumento de los niveles de ácidos grasos libres plasmáticos (31, 98, 121). Estos eventos metabólicos no ocurren en los animales normales, cuando por alguna circunstancia, la concentración de los ácidos grasos aumenta en el plasma, éstos tienen concentraciones de albúmina circulante normales que proporcionan cantidades suficientes de sitios

de unión de aquellos y del Trp plasmático, así evitan que la fracción libre del Trp aumente en el plasma (98). En cambio en el animal desnutrido los ácidos grasos libres pueden competir con el Trp para unirse a la albúmina, aumentando la fracción libre del aminoácido.

Otro factor a considerar sería un aumento del catabolismo proteínico en el desnutrido, en este caso, los aminoácidos producto de la degradación de las proteínas, por un lado son usados como fuente de energía y por el otro aumentan la concentración de aminoácidos libres plasmáticos. El grupo de aminoácidos neutros (Phe, Val, Ile, Leu, Tyr) parecen competir con la fracción libre del Trp plasmático por un mismo transportador a nivel de la BBB para pasar al cerebro. Fernstrom y Col. (124-126) postulan que para que hubiera un mayor paso de Trp a través de la BBB, el grupo de aminoácidos neutros que compiten por el mismo acarreador membranal deberían estar disminuidos. Nuestros datos no confirman en humanos la hipótesis propuesta por estos autores, ya que el grupo de aminoácidos neutros plasmáticos en los niños desnutridos presentó, una correlación negativa con la fracción libre del Trp y no disminuyó en el período estudiado. Sólo presentaron modificaciones

aisladas de algunos de ellos. Este hecho plantea la posibilidad, que en los humanos, el transporte del Trp a través de la BBB sea por un sistema de acarreador membranal específico, diferente al de los aminoácidos neutros, como ha sido sugerido por Kruse y Col (163). Los otros aminoácidos estudiados en el presente trabajo, tampoco mostraron una correlación con la fracción libre del Trp. Estos datos apoyan que el cambio observado en la fracción libre del Trp, es un cambio específico para este aminoácido y favorece la hipótesis de que el desequilibrio del balance entre la fracción libre y la fracción unida a albúmina, regula la disponibilidad del Trp para pasar en mayor o menor proporción al cerebro, en recién nacidos humanos.

Los aminoácidos alanina y lisina en el grupo de pre-término desnutridos y glutámico, glicina, prolina, alanina, arginina y metionina en los de término desnutridos, mostraron un patrón de desarrollo con un aumento a los 15 días de edad postnatal, probablemente debido a una alteración funcional de la insulina (164).

La serotonina plasmática que se determinó como un

control en los niños desnutridos, disminuyó, a diferencia de la serotonina cerebral que aumentó en el cerebro de las ratas. Esta fracción periférica de la 5-HT, no correlaciona con el aumento observado del Trp plasmático. Esto puede explicarse por el hecho que la 5-HT del plasma representa fundamentalmente a la que se almacena en las plaquetas y no a la que se sintetiza de novo periféricamente. Esta baja de serotonina sérica en los niños desnutridos se podría explicar por un posible defecto en la enzima 5-hidroxitriptofano descarboxilasa periférica y/o en su cofactor el piridoxal 5-fosfato, o por trombocitopenia. Un defecto de la enzima y el cofactor periférico de la síntesis de 5-HT se ha descrito en el riñón de neonatos prematuros no desnutridos (165). Nuestros datos muestran, sin embargo que no hay correlación entre la concentración de serotonina plasmática observada en los neonatos desnutridos con los niveles elevados de Trp libre, lo que da mayor apoyo a la relación de éste último, en forma más específica, con la síntesis de serotonina cerebral en dichos niños. Los datos presentados acerca del aumento de la síntesis de la 5-HT cerebral en los animales desnutridos apoyan este punto.

Los presentes resultados, confirman y amplían resultados anteriores en los que se observó un aumento de la 5-HT cerebral en ratas sometidas a desnutrición proteínica o proteínica-calórica durante la gestación o lactancia (51, 52, 55, 98, 102), o en ratas sometidas a períodos de ayuno relativamente corto de 24 a 48 h (104-106). En dichos estudios no se había cuantificado la 5-HT, junto con la concentración del Trp y de 5-HT en el cerebro del mismo animal a partir de la etapa fetal. Tampoco se había hecho el intento como en el presente trabajo, de investigar el estado del aminoácido precursor, el Trp plasmático libre, en neonatos humanos con y sin desnutrición y la relación con el grupo de aminoácidos neutros, que nos han informado acerca del posible mecanismo regulador en humanos del paso del Trp libre al cerebro a través de la BBB, que no parece competir con ellos.

Hay una serie de datos en la literatura que muestran en el cerebro de animales, la importancia de las alteraciones tempranas del sistema serotoninérgico cerebral (69). Haydon y Col (70) y Whitaker-Azmitia (71), han reportado el efecto profundo de las alteraciones del sistema serotoninérgico cerebral en neuronas jóvenes en cultivo.

A nivel de los conos de crecimiento, un aumento de 5-HT inhibe su desarrollo y el establecimiento de sinápsis. Se han observado autoreceptores específicos en el período prenatal que parecen regular la diferenciación de las mismas neuronas serotoninérgicas (71). La inhibición temprana de la T5-H, por paraclorofenilalanina, altera el patrón de maduración de neuronas inervadas por el sistema serotoninérgico en diferentes regiones del cerebro fetal (166). Fillion y Hernández (95), han encontrado que la lesión neonatal de las neuronas serotoninérgicas en el cerebro de rata, induce un aumento en el número final de receptores para la 5-HT en el tejido cerebral de la rata en desarrollo. Otros autores han reportado el efecto deletéreo del aumento de la 5-HT cerebral durante el desarrollo postnatal (167, 168). Se ha visto que la administración suplementaria del Trp durante la gestación induce un aumento de la actividad de la T5-H en el cerebro fetal y un aumento de la concentración de la 5-HT en el período postnatal y modificación de la bomba de Na^+ y K^+ (92). Todo esto indica la importancia de las alteraciones tempranas durante la ontogénesis del sistema serotoninérgico central. La determinación de parámetros accesibles en los humanos, mediante métodos sencillos y de bajo costo que

proporcionen información acerca del metabolismo de un neurotransmisor cerebral, deben de ser de gran ayuda en el diagnóstico, manejo y pronóstico de problemas neuro y psicopatológicos en los que puede estar involucrada la serotonina, como son: el autismo infantil (169), la depresión (86, 170), la mioclonia (171), los estados convulsivos (172, 173), la hiperactividad en los niños (174), y algunos tipos de retraso mental (175, 176).

En el caso del presente trabajo, creemos que ha sido interesante conocer los posibles mecanismos de daño que pueda ocasionar la desnutrición en períodos tempranos del desarrollo del cerebro en humanos y reflexionar sobre las posibles consecuencias en el desarrollo de la función cerebral a posterior, por el papel que la 5-HT juega en los procesos tempranos de diferenciación neuronal mencionados, que podrían alterar el desarrollo normal de grupos de vías neuronales inervadas por este sistema.

RESUMEN

La desnutrición temprana en animales de experimentación induce cambios metabólicos específicos sobre el sistema serotoninérgico cerebral. La síntesis de serotonina cerebral se encuentra elevada lo que depende del incremento de su precursor que es la fracción libre del Trp plasmático. Se conocen dos fracciones del Trp plasmático, una de ellas unido a albúmina y la otra libre. La relación del Trp unido a albúmina con la fracción libre del aminoácido, determina la disponibilidad de esta última fracción para su paso a través de la barrera hematoencefálica, por un mecanismo de transporte activo, que está mediado por un sistema de acarreador membranar. Otro posible mecanismo que regula el paso del Trp al cerebro es la competencia de aminoácidos como la fenilalanina, tirosina, leucina, isoleucina y valina, con el Trp por el mismo sistema de transporte a nivel de la barrera hematoencefálica.

La hipótesis del presente trabajo consistió en que los recién nacidos humanos con desnutrición intrauterina tienen un aumento de la síntesis de serotonina cerebral

a través de la elevación de la fracción libre del Trp plasmático.

Para probar dicha hipótesis, se estudiaron parámetros relacionados con el metabolismo serotoninérgico en dos grupos de neonatos humanos con edad gestacional entre 33 y 37 semanas, grupo pretérmino y entre las 38 y 42 semanas, grupo de término, afectados de desnutrición intrauterina y controles normales; a ellos se les determinó la fracción libre, la fracción unida a albúmina del Trp plasmático; también se cuantificaron los aminoácidos neutros para conocer su posible relación con la fracción libre del Trp plasmático y otros aminoácidos del plasma no relacionados con la síntesis de 5-HT, como control. Este estudio se complementó con la determinación en el cerebro de fetos de ratas con dos tipos de desnutrición temprana, producida, una por restricción proteínico-calórica a las madres gestantes y otra por ligadura de una de las ramas de la arteria uterina y controles normales. En ellos se determinaron los parámetros relacionados con la síntesis del neurotransmisor 5-HT, en el cerebro fetal y durante el período postnatal inmediato.

En los recién nacidos humanos con desnutrición intrau-

terina, tanto pretérmino como de término mostraron una disminución significativa del peso corporal, longitud y perímetro cefálico a las tres edades estudiadas, también se observó una elevación significativa de la fracción libre del Trp plasmático, los aminoácidos neutros no mostraron cambios consistentes, existió disminución significativa de la fracción del Trp unido a albúmina y cambios irregulares de los otros aminoácidos.

En el cerebro fetal de ratas desnutridas se observó aumento significativo de la concentración del Trp, de la actividad de la T5-H y del neurotransmisor 5-HT, del día 17 de gestación al día 10 de vida postnatal en relación a sus controles.

Los resultados de los estudios bioquímicos realizados en humanos, confirman la hipótesis del presente trabajo.

La elevación del Trp plasmático libre, sin disminución relativa de los aminoácidos neutros en los neonatos humanos con desnutrición temprana sugiere un mayor transporte del Trp al cerebro con un aumento posible de la síntesis de serotonina cerebral. Lo que se confirmó en el cerebro de

ratas con desnutrición gestacional con una aceleración de la síntesis de 5-HT a partir del período fetal.

Estos cambios en el metabolismo serotoninérgico en períodos tempranos del desarrollo del cerebro, pueden influir importantemente en la diferenciación neuronal, por el papel que la 5-HT juega en los procesos de diferenciación neuronal que podrían alterar el desarrollo normal de grupos de vías neuronales inervadas por este sistema.

CONCLUSIONES

1. Los resultados apoyan la existencia de una alteración en la biosíntesis de la 5-HT cerebral secundaria a desnutrición gestacional, por el aumento de la concentración plasmática del precursor L-Trp (fracción libre) en los recién nacidos humanos.
2. Se confirmó que en el cerebro de ratas desnutridas existió una aceleración de la síntesis del neurotransmisor por el aumento del sustrato Trp, de la actividad de la T5-H y la concentración de 5-HT.
3. Nuestros resultados obtenidos en el plasma de recién nacidos humanos con desnutrición intrauterina sugieren que el mecanismo de regulación del paso del Trp al cerebro es probablemente la relación Trp libre/Trp unido a albúmina.
4. Estos resultados plantean la importancia de continuar el estudio de marcadores periféricos del metabolismo de neurotransmisores cerebrales, en humanos normales y desnutridos o con otras patologías, en diferentes períodos del desarrollo.

B I B L I O G R A F I A

1. Ramos GR, Pérez OB, Mariscal AC, Viniegra CA. La dinámica de la desnutrición. Bol. Med. Hosp. Infant (Méx) 1964; 21: 17;
2. Ramos GR. Desnutrición un componente del síndrome de privación social. Gaç.Med. Mex 1966; 96: 929,
3. Viniegra CA, Ramos GR. El síndrome de privación social. Ticitl 1966; 6:3,
4. Cravioto J, Delicardie ER. In: nutrition, the nervous system and behavior. Pan American Health Organization (World Health Organization) Scientific Publication No. 251, 1972; 73-94.
5. Cravioto J, Delicardie ER. Malnutrition in early childhood. Food. Nutr 1976; 2:2-11.
6. Tizard J. Early malnutrition, growth and mental development in man. Br. Med. Bull 1974: 30: 169-174.
7. Stoch MB, Smythe PM. 15-year developmental study on effects of severe undernutrition during infancy on subsequent physical growth and intellectual functioning. Arch. Dis. Child 1976; 51: 327-336.

8. Fitzhardinge PM, Steven EM. The small for date infant. II. neurological and intellectual sequelae. *Pediatrics* 1972; 50:50,
9. Hill RM, Verniaud WM, Deter RL, Tennyson LM, Retting GM, Zion TE, Vordeman AL, Helms PG, McCulley LB, Hill LL. The effect of malnutrition on the term infant. A 14 year progressive study. *Acta. Paediatr. Scand* 1984; 73: 482-487.
10. Hack M, Breslaud N. Very low birth weight infants: Effects of brain growth during infancy on intelligence quotient at 3 years of age. *Pediatrics* 1986; 77: 196-202.
11. Gómez F. Desnutrición. *Bol. Med. Infant (Méx)* 1946; 3: 543,
12. Ramos GR, Cravioto J. Desnutrición, Concepto y ensayo de sistematización. *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1958; 15: 763,
13. Ramos GR. La desnutrición infantil en México. Sus aspectos estadísticos, clínicos, dietético y social. *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1964; 21:19,
14. Viniegra CA. La dinámica de la desnutrición. Factores que determinan el estado de nutrición. *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1964; 21:19,

15. Cravioto J, Delicardie EMR. La desnutrición infantil y el ambiente social. Ciencia y Desarrollo (CONACYT) 1977; 13: 63-72.
16. Enesco M, Leblond CP. Increase in cell numbers as a factor in the growth of the organs and tissues of the young male rat. J. Embryol. Exp. Morphol 1962; 10: 530,
17. Winick M, Noble A. Quantitative changes in DNA and RNA and protein during prenatal and postnatal growth in the rat. Dev. Biol 1965; 12: 451,
18. Kaplan SL, Grumbach MM. Immunoassay for human chorionic growth hormone-prolactin in serum and urine. Science 1965; 147: 751,
19. Ounsted M, Ounsted C. On the fetal growth rate. London, Heinemann, 1973; 72-75.
20. Widdowson EM. Harmony of growth. Lancet 1970; 69: 901,
21. Cook LN. Reconocimiento intra y extrauterino y tratamiento del crecimiento fetal desviado. Clin. Ped. Nort. Am 1977; 429-453.
22. Chase HP. The effects of intrauterine and postnatal undernutrition on normal brain development. Ann. N.Y. Acad. Sci 1973; 205-231.

23. Lubchenco LO, Hausman C, Dressler M, Boyd E. Intrauterine growth as estimated from live born birth weight data at 25 to 42 weeks of gestation. *Pediatrics* 1963; 32: 793-800.
24. Gómez F, Ramos GR, Cravioto J, Frenk S. Malnutrition and Kwashiorkor. *Acta. Paediatrica (Uppsala)* 1954; 43: 336,
25. Gómez F, Ramos GR, Cravioto J, Frenk S. Malnutrition in infancy and childhood with reference to kwashiorkor. *Advances in Pediatrics* 1955; 7: 131,
26. Ramos GR. Desnutrición en el niño. *Bol. Clin. Asoc. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1961; 1:2,
27. Miller D, Crane RK. The digestion of carbohydrates in the small intestine. *Am. J. Clin. Nutr* 1963; 12: 220,
28. Cravioto J, De la Peña CLG. Fat Metabolism in chronic severe malnutrition. Lipoproteins in children with kwashiorkor. *Metabolism* 1959; 8: 722,
29. Dawson AM. Absorption of fats. *Br. Med. Bull* 1967; 23: 247,
30. Gómez F, Ramos GR, Cravioto J, Frenk S. Metabolismo proteico en la desnutrición crónica. Absorción y retención de nitrógeno de proteínas de alto valor biológico. *Rev. Inves. Clin. Méx* 1957; 9: 41.

31. Gitlin D, Cravioto J, Frenk S, López ME, Ramos GR, Gómez F, Janeway EC. Albumin metabolism in children with protein malnutrition. *J. Clin. Inv* 1958; 37: 682,
32. Frenk S, Metcoff J, Gómez F, Ramos GR, Craviot J, Antononowicz I. Intracellular composition and homeostatic mechanisms in chronic severe infantile malnutrition. II. Tissues composition. *Pediatrics* 1957; 20: 105,
33. Frenk S. Algunas particularidades del metabolismo de agua y sales en preescolar con desnutrición grave. *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1958; 15: 789,
34. Gómez F, Ramos GR, Cravioto J, Bienvenú B. El volumen sanguíneo y del plasma en el niño desnutrido. *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1950; 7: 514,
35. Gómez F, Ramos GR, Bienvenú B, Cravioto J. Las seroproteínas y sus fracciones en el preescolar clínicamente sano y en el desnutrido. *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1950; 7: 497.
36. Ramos GR, Alba GB. Proteínas séricas y sus fracciones en el niño desnutrido de tercer grado (estudio de 1700 casos). *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1964; 21: 263,
37. Reinhardt MC, Burkhalter JF. The cord serum free amino acid levels in appropriate and small for gestational age newborn infants of mothers without clinical malnutrition in abidjan. *Acta. Paediatr. Scand* 1980; 69: 201-204.

38. Godard C, Zahnd GR. Growth hormone and insulin in severe infantile malnutrition. I. Plasma growth hormone response to hypoglycemia. *Helv. Pediatr. Acta* 1971; 26: 266-275.
39. Parra A, Klish W, Cuellar A, Serrano AP, García G, Argote EM, Canseco L, Nichols LB. Energy metabolism and hormonal profile in children with edematous protein-calorie malnutrition. *J. Pediatr* 1975; 87: 307-314.
40. Chase HP, Welch NN, Dabiere CS, Vasan NS, Butterfield LJ. Alterations in human brain biochemistry following intrauterine growth retardation. *Pediatrics* 1972; 50: 403,
41. Sarma MKJ, Rao KS. Biochemical composition of different regions in brains of small for date infants. *J. Neurochem* 1974; 22: 671.
42. Vasan NS, Chase HP. Brain glycosaminoglycans (mucopolysaccharides) following intrauterine growth retardation. *Biol. Neonate* 1976; 28: 196,
43. Srđbnik MH. Sex differences in pituitary gonadotrophic function of protein deficient rats. *Endocrinology* 1964; 75:716-720.
44. Shrader RE, Ferlatte M, Zeman FJ. Early postnatal development of the intestine in progeny of protein deprived rats. *Biol. Neonate* 1977; 31: 181-198.

45. Loh KR, Shrader EE, Zeman FJ. Effect of maternal protein deprivation on neonatal intestinal absorption in rats. *J. Nutr* 1971; 101: 1663-1671.
46. Guthrie HA, Brown ML. Effect of severe undernutrition in early life on growth, brain size and composition in adult rats. *J. Nutr* 1968; 94: 419-426.
47. Chase HP, McKhann GM. The effects of malnutrition on the synthesis of myelin lipid. *Pediatrics* 1967; 40: 551-559.
48. Bourre JM, Morand O, Chanez C, Dumont O, Flexor MA. Influence of intrauterine malnutrition on brain development alteration of myelination. *Biol. Neonate* 1981; 39: 96-99.
49. Gambetti P, Gambetti AL, Gonatas KN, Shafer B, Stieber A. Synapses and malnutrition morphological and biochemical study of synaptosomal fractions from rat cerebral cortex. *Brain. Res* 1972; 47: 477-484.
50. Cragg GB. The development of cortical synapses during starvation in the rat. *Brain* 1972; 95: 143-150.
51. Hernández RJ. Developmental pattern of the serotonin synthesizing enzyme in the brain of postnatally malnourished rats. *Experientia* 1973; 29: 1487-1488.
52. Hernández RJ. Ontogenetic malnutrition and interaction of monoamines and enzymes in the brain. In Usdin E, Kopin JI, Barchas J. Catecholamines basic and clinical frontiers. Pergamon Press Oxford, 1979; 2: 830-832.

53. Hernández RJ. Effects of malnutrition and quipazine on rat cerebral cortex ATPase activity during development. *Dev. Neurosci* 1980; 3: 277-282.
54. Hernández RJ. Na^+ - K^+ ATPase activity in the brain cortex of rats ontogenetically malnourished and treated with serotonin precursors. *Brain. Res* 1979; 162: 348-352.
55. Hernández R.J. Effects of malnutrition and 6-hydroxydopamine on the early postnatal development of noradrenaline and serotonin content in the rat brain. *Biol. Neonate* 1976; 30: 181-186.
56. Dahlström A, Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. *Acta. Physiol. Scand* 1964; 62: Suppl 232, 1-55.
57. Levitt P, Moore RY. Developmental organization of raphe serotonin neuron groups in the rat. *Ant. Embryol* 1978; 154: 241-251.
58. Steinbusch HW. Distribution of serotonin immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neurosci* 1981; 6: 557-618.
59. Lidov HG, Molliver ME. Immunohistochemical study of the development of serotonergic neurons in the rat CNS. *Brain.Res. Bull* 1982; 9:559-604.

60. Kuhar MJ, Atwech SF. Distribution of some suspected neurotransmitters in the central nervous system. In reviews of Neuroscience. Ehrenpreis E, Kopin L, Raven Press, New York, 1978; 3:35-76.
61. Kuhar MJ, Aghajanian GK, Roth RH. Tryptophan hydroxylase activity and synaptosomal uptake of serotonin in discrete brain regions after mid-brain raphe lesions. Brain. Res. 1972; 44: 165-176.
62. Takahashi H, Nakashima S, Ohama E, Takeda S, Ikuta F. Distribution of serotonin-containing cell bodies in the brainstem of the human fetus determined with immunohistochemistry using antiserotonin serum. Brain. Dev. 1986; 8: 355-365.
63. Olson L, Seiger A. Early prenatal ontogeny of central monoamine neurons in the rat: fluorescence histochemical observations. Z. Ant. Entwickl. Gesch 1972; 137: 301-316.
64. Olson L, Boréus LO, Seiger A. Histochemical demonstration and mapping of 5-hydroxytryptamine and catecholamine containing neuron systems in the human fetal brain. Z. Anat Entwickl. Gesch 1973; 139: 259-282.
65. Andén NE, Carlsson A, Häggendal J. Adrenergic mechanisms. Ann. Rev. Pharmacol 1969a; 9: 119-133.
66. Carlsson A. Basic action of psychoactive drugs. Int. J. Neurol 1967; 6: 27-45.

67. Amin AH, Crawford TBB, Gaddum JH. The distribution of substance P and 5-hydroxytryptamine in the central nervous system of the dog. *J. Physiol (Lond)* 1954; 126: 596-618.
68. Lauder JM. Hormonal and humoral influences on brain development. *Psychoneuroendocrinology* 1983; 8: 121-155.
69. Lauder JM, Wallace JA, Krebs H, Petrusz P. Serotonin as a timing mechanism in neuroembryogenesis. In *Progress in Psychoneuroendocrinology*. Elsevier North Holland Biomedical Press 1980; 539-555.
70. Haydon PG, McCobb DP, Kater SB. Serotonin selectively inhibits growth cone motility and synaptogenesis of specific identified neurons. *Science* 1984; 226: 561-564.
71. Whitaker-Azmitia PM, Azmitia EC. Autoregulation of fetal serotonergic neuronal development: Role of high affinity serotonin receptors. *Neurosci. Lett* 1986; 67: 307-312.
72. Jouvet M. Biogenic amines and the states of sleep. *Science* 1969; 163: 32-41.
73. Jouvet M. Serotonin and sleep in the cat. In *serotonin and behavior*. Eds Barchas J, Usdin E. Academic Press, New York. 1973; 385-400

74. Messing RB, Lytle LD. Serotonin containing neurons: Their possible role in pain and analgesia. *Pain* 1977; 4: 1-21.
75. Randic M, Yu HH. Effects of 5-hydroxytryptamine and bradykinin in cat dorsal horn neurones activated by noxious stimuli. *Brain. Res* 1976; 111: 197-203.
76. Akii H, Mayer DJ. Antagonism of stimulation-produced analgesia by p-CPA a serotonin synthesis inhibitor. *Brain. Res* 1972; 44: 692-697.
77. Yaksh TL. Direct evidence that spinal serotonin and noradrenaline terminals mediate the spinal antinoceptive effects of morphine in the periaqueductal gray. *Brain. Res* 1979; 160: 180-185.
78. Gorgnia K. Effects of repeated 5-hydroxytryptamine injection on temperature regulating the functional activity of brain 5-hydroxytryptamine. *Nature* 1976; 260: 487-491.
79. Goodrich C, Choy M. Body temperature and 5-hydroxytryptamine during early postnatal maturation in mice. *Dev. Psychobiol* 1978; 11: 531-540.
80. Wurtman JJ, Wurtman RJ. Drugs that enhance central serotonergic transmission diminish elective carbohydrate consumption by rats. *Life. Sci* 1979; 24: 895-904.

81. Shor-Posner G, Grinker AJ, Marinescu C, Brown O, Leibowitz FS. Hypothalamic serotonin in the control of meal patterns and macronutrient selection. Brain. Res. Bull 1986; 17: 663-671.
82. Shillito EE. The effects of p-chlorophenylalanine on social interaction of male rats. Br. J. Pharmacol 1970; 36: 193.
83. Van de Kar LD, Lorens SA. Differential serotonergic innervation of individual hypothalamic nuclei and other forebrain regions by the dorsal and medial midbrain raphe nuclei. Brain. Res 1979; 162: 45-54.
84. Schildkraut JJ, Kety SS. Biogenic amines and emotion. Science 1967; 156: 21-30.
85. Barchas JD, Akil H, Elliott GR, Holman RB, Watson SJ. Behavioral neurochemistry; Neuroregulators and behavioral states. Science 1978; 200: 964-973.
86. Van Praag HM, De Haan S. Central serotonin metabolism and frequency of depression. Psychiatry. Res 1979; 1: 219-224.
87. Myers RD. Serotonin and Behavior. Academic Press New York, 1973.
88. Oscós A, Hernández RJ. Gestational malnutrition and drugs affecting brain serotonin: Effects on temporal control behavior. Behavioral. Neural. Biol 1982; 34: 358-371.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

89. Hernández RJ. A serotonin agonist-antagonist reversible effect on $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity in the developing rat brain. *Dev. Neuroscie* 1982; 5: 326-331.
90. Hernández RJ. Brain $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity possibly regulated by a specific serotonin receptor. *Brain. Res* 1987; 408: 399-402.
91. Yoshimura K. Activation of $\text{Na}^+\text{-K}^+$ activated ATPase in rat brain by catecholamine. *J. Biochem* 1973; 74: 389-391.
92. Hernández RJ, Chagoya GG. Brain serotonin synthesis and $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPase activity are increased postnatally after prenatal administration of L-Tryptophan. *Dev. Brain. Res* 1986; 25: 221-226.
93. Fillion G, Rouselle JC, Fillion MP, Beaudoin DM, Goiny MR, Denicau JM, Jacob JJ. High affinity binding of (^3H) 5-hydroxytryptamine to brain synaptosomal membranes; comparison with (^3H) lysergic acid diethylamide binding. *Mol. Pharmac* 1978; 14: 50-59.
94. Fillion G, Beaudoin D, Rouselle JC, Deniau JM, Fillion MP, Dray F, Jacob J. Decrease of (^3H) 5-HT high affinity binding and 5-HT adenylate cyclase activation after kainic acid lesion in rat brain striatum. *J. Neurochem* 1979; 33:567-570.

95. Fillion MP, Hernández RJ, Bauguen C, Fillion G. Postnatal development of high affinity neuronal recognition sites for (³H) 5-HT in rat brain. Dev. Neuroscie 1982; 5: 484-491.
96. Hernández RJ, Martínez FD, Chagoya GG, Fillion MP, Fillion G. Existence of (³H) serotonin binding sites in the rat spinal cord. A developmental study. Int. J. Devl. Neurosci 1984; 2: 33-41.
97. Peroutka SJ, Lebovitz RM, Snyder SH. Two distinct central serotonin receptors with different physiological function. Science Wash 1982; 212: 827-829.
98. Miller M, Leahy PJ, Stern CW, Morgane JP, Resnick O. Tryptophan availability: Relation to elevated brain serotonin in developmentally protein-malnourished rats. Expl. Neurol 1977; 57: 142-157.
99. Stern WC, Resnick O, Miller M, Forbes WB, Morgane PJ. Protein malnutrition during development changes in metabolism of biogenic amines in brain. Fedn. Proc 1974; 33: 661-670.
100. Tagliamonte A, Biggio G, Vargiu L, Gessa GL. Free Tryptophan in serum controls brain tryptophan level and serotonin synthesis. Life. Sci 1973; 12: 277-287.

101. Gessa GL, Tagliamonte A. En Wolstenholme GEW, Fitzsimons DW. Aromatic amino acids in the brain. Serum free tryptophan: control of brain concentrations of tryptophan and of synthesis of 5-hydroxytryptamine. Elsevier, Amsterdam 1974; 207-216.
102. Miller M, Leahy JP, Mcconville F, Morgane PJ, Resnick O. Effects of developmental protein malnutrition on tryptophan utilization in brain and peripheral tissues. Brain. Res. Bull 1977; 2: 347-353.
103. Curzon G, Knott PJ. Drugs influencing plasma and brain tryptophan. Brit. J. Pharmacol 1973; 48: 352-353.
104. Zeisel HS, Mauron C, Watkins CJ, Wurtman RJ. Developmental changes in brain indoles, serum tryptophan and other serum neutral amino acids in the rat. Develop. Brain. Res 1981; 1: 551-564.
105. Perez-Cruet J, Tagliamonte A, Tagliamonte P, Gessa GL. Changes in brain serotonin metabolism associated with fasting and satiation in rats. Life. Sci 1972; 11: 31-39.
106. Spear LP, Scalzo FM. Ontogenetic alterations in the effects of food and/or maternal deprivation on 5-HT, 5-HIAA and 5-HIAA/5-HT ratios. Develop. Brain. Res 1985; 18: 143-157.
107. Bourgoin S, Faivre-Bauman A, Benda P, Glowinski J, Hamon M. Plasma tryptophan and 5-HT metabolism in the CNS of the newborn rat. J. Neurochem 1974; 23: 319-327.

108. Neckers LM, Biggio G, Maja E, Meek JL. Modulation of brain tryptophan hydroxylase activity by brain tryptophan content. *J. Pharmacol. Exp. Ther* 1971; 177: 475-480.
109. Jequir E, Robinson DS, Lovenberg W, Sjoerdsma A. Further studies on tryptophan hydroxylase in rat brain stem and beef pineal. *Biochem. Pharmacol* 1969; 18: 1071-1081.
110. Hamon M, Glowinski J. Regulation of serotonin synthesis. *Life. Sci* 1974; 15: 1533-1548.
111. Grahame-Smith DG. Tryptophan hydroxylation in brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1964; 16: 586-692.
112. Jequier E, Lovernberg W, Sjoerdsma A. Tryptophan hydroxylase inhibition the mechanism by which p-chloro phenylalanine depletes rat brain serotonin. *Mol. Pharmacol* 1967; 3: 274-278.
113. Sourkes TL. Nutrients and the cofactors requieres for monoamine synthesis in nervous tissue. In: *Nutrition and the brain*. Eds Wurtman RJ, Wurtman JJ. Raven Press, New York, 1979; 3: 265-299.
114. Turner AJ. The roles of folates and pteridin derivatives in neurotransmitter metabolism. *Biochem. Pharmacol* 1977; 26: 1009-1014.
115. Hamon M, Bourgoïn S, Artaud F, El Mestikaway S. The respective roles of tryptophan uptake and tryptophan hydroxylase in the regulation of serotonin syntesis in the central nervous system. *J. Physiol. Paris* 1981; 71: 269-279.

116. Hernández RJ, Illnerova H. Activity of 5-hydroxytryptophan decarboxylase during the first twenty days of postnatal life in the rat pineal gland. Effect of light. *Neuroendocrinology* 1970; 6: 343-348.
117. Lovenberg W, Weissbach H, Udenfriend S. Aromatic L-amino acid decarboxylase. *J. Biol. Chem* 1962; 237: 89-93.
118. Sims KL, Davis GA, Bloom FE. Activities of 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine and 5-hydroxy-L-tryptophan decarboxylases in rat brain. Assay characteristics and distribution. *J. Neurochem* 1973; 20: 449-464.
119. Beaudet A, Descarries L. The fine structure of central serotonin neurons. *J. Physiol. Paris* 1981; 77: 193-203.
120. Poitou P, Boulu R. Psychopharmacologie du tryptophane. *Path. Biol* 1977; 25: 565-571.
121. McMenamy RH, Oncley JL. The specific binding of L-tryptophan to serum albumin. *J. Biol. Chem* 1958; 233: 1436-1447.
122. Yuwiler A, Oldendorf WH, Geller E, Braun L. Effects of albumin and amino acid competition on tryptophan uptake into brain. *J. Neurochem* 1977; 28: 1015-1023.
123. Sorukes TL. Kinetics of tryptophan transport into the brain. *J. Neural. Transm. Suppl* 1977; 15: 107-114.

124. Fernstrom JD, Wurtman RJ. Brain serotonin content: Physiological regulation by plasma neutral amino acids. *Science* 1972; 178: 414-416.
125. Fernstrom JD, Faller DV. Neutral amino acid in the brain changes in response to food ingestion. *J. Neurochem* 1978; 30: 1531-1538.
126. Fernstrom JD, Faller DV, Shabselowitz H. Acute reduction of brain serotonin and 5-HIAA following food consumption; correlation with the ratio of serum tryptophan to the sum of competing amino acids. *J. Neural. Transm* 1975; 36: 113-121.
127. Wigglesworth JS. Experimental growth retardation in the foetal rat. *J. Path. Bact* 1964; 88: 1-13.
128. Lauder JM, Bloom FE. Ontogeny of monoamine neurons in the locus coeruleus, raphe nuclei and substantia nigra in the rat. I. Cell differentiation. *J. Comp. Neurol* 1974; 155: 469-482.
129. Ballard J, Kasmaier K, Driver M. A simplified score for assessment of fetal maturation of newly born infant. *J. Pediatr* 1979; 95: 769-774.
130. Apgar V. Proposal for new method of evaluation of the newborn infant. *Curr. Res. Anesth. Analg* 1953; 32: 260,
131. Silverman WA, Anderson DH. A controlled clinical trial of effects of water mist and obstructive respiratory signs, death rate and necropsy findings among premature infants. *Pediatrics* 1956; 17: 1,

132. Avery GB, Fletcher AB. En Avery GB. Neonatology: Nutrition. Growth parameters. Lippincot 2nd Ed, 1981; 1002-1060, 1190-1197.
133. Gál EM, Patterson K. Rapid noisotopic assay of tryptophan 5-hydroxylase activity in tissues. Anal. Biochem 1973; 52: 625-629.
134. Curzon G, Green AP. Rapid method for determination of 5-HT and 5-HIAA and 5-hydroxyindoleacetic acid in small regions of the rat brain. Br. J. Pharmacol 1979; 39: 653-655.
135. Barchas J, Erdelyi E, Angwin P. Simultaneous determination of indole and catecholamines in tissues using a weak cation exchange resin. Anal. Biochem 1972; 50: 1-17.
136. Hijikata BY, Hara K, Shiozaki Y, Murata K, Sameshima Y. Determination of free tryptophan in plasma and its clinical applications. J. Clin. Chem. Biochem 1984; 22: 291-299.
137. Denckla WD, Dewey HK. The determination of tryptophan in plasma, liver and urine. J. Lab. Clin. Med 1967; 69: 160-169.
138. Bloxam DL, Warren WH. Error in the determination of tryptophan by the method of Denckla and Dewey. A revised procedure. Anal. Biochem 1974; 60: 621-625.
139. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem 1951; 193: 265-275.

140. Garmilla M. Determinación de aminoácidos en el plasma humano. Unidad de proteínas. Departamento de Neurociencias, Fisiología y Biofísica. CINVESTAV - IPN. Comunicación personal.
141. Downie NM, Heath RW. Métodos estadísticos aplicados. México. Harla, 1973; 193-201 y 144-157.
142. Ramos GR. Desnutrición y crecimiento físico. Bol. Med. Hosp. Infant (Méx) 1964; supl 21: 1,
143. Ramos GR, Cravioto J, Navarrete JA. La letalidad en el niño desnutrido. Bol. Med. Hosp. Infant (Méx) 1958; 15: 875,
144. Mariscal AC, Viniegra CA, Ramos GR. Predicción de la talla en niños desnutridos y talla de los progenitores. Bol. Med. Hosp. Infant (Méx) 1966; 23: 465,
145. Mariscal AC, Viniegra CA, Ramos GR. Predicción de la talla. Bol. Med. Hosp. Infant (Méx) 1967; 24: 23,
146. Mariscal AC, Ramos GR, Viniegra CA, Pérez OB. Predicción de la talla final en niños con peso proporcionado a la talla. Bol. Med. Hosp. Infant (Méx) 1967; 24: 43,
147. Ramos GR. Crecimiento en la desnutrición. Gac. Med. Mex 1967; 97: 1527,
148. Aguilar PR. Estudio sobre las avitaminosis y las perturbaciones del crecimiento en los niños hipoalimentados. Gac. Med. Mex 1944; 75: 26,

149. Down EF. Nutritional dwarfism. A syndrome of early protein calorie malnutrition. *Amer. J. Clin. Nutr* 1964; 15: 275,
150. Fitzhardinge PM, Steven EM. The small for dates infant. I. later growth patterns. *Pediatrics* 1972; 49: 671,
151. Fancourt R, Campbell S, Harvey D, Norman AP. Follow up study of small for dates babies. *Br. Med. J.* 1976; 1: 1435,
152. Babson SG, Kangas J, Youg N, Bramhall JL. Growth and development of twins of dissimilar size at birth. *Pediatrics* 1964; 33: 327,
153. Miller CH, Hassanein K. Fetal malnutrition in white newborn infants: Maternal factors. *Pediatrics* 1973; 52: 504-512.
154. Ramos GR, Perez OB, Mariscal AC, Viniegra CA. Homeorresis. *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1967; 24: 5,
155. Forbes WB, Tracy C, Resnick O, Morgane JP. Effects of maternal dietary protein restriction on growth of the brain and body in the rat. *Brain. Res. Bull* 1977; 2: 131-135.
156. Gruenwald P. Chronic fetal distress and placental insufficiency. *Biol. Neonate (Basilee)* 1963; 5: 215,

157. Brown RE. Organ weight in malnutrition with special reference to brain weight. *Dev. Med. Child. Neurol* 1966; 8: 512-522.
158. Bray PF, Shields WD, Wolcott GJ, Madse JA. Occipito-frontal head circumference-an accurate measure of intracranial volume. *J. Pediatr* 1969; 75: 303,
159. Winick M, Rosso P. Head circumference and cellular growth of the brain in normal and marasmic children. *J. Pediatr* 1969; 74: 774.
160. Ambrosius K, Maldonado R, Escobedo J. El comportamiento del peso de algunos órganos en niños con desnutrición de tercer grado. *Bol. Med. Hosp. Infant (Méx)* 1961; 18: 47,
161. Shoemaker JW, Bloom EF. En Wurtman JR, Wurtman JJ. Nutrition and the brain. Effects of undernutrition on brain morphology. New York. Raven Press 1977; 2: 147-192.
162. Nowak ST, Munro NH. En Wurtman JR, Wurtman JJ. Nutrition and the brain. Effects of protein calorie malnutrition on biochemical aspects of brain development. New York. Raven Press 1977; 2: 193-260.
163. Kruse T, Reiber H, Neuhoff V. Amino acid transport across the human blood-CFS barrier. *J. Neurol. Sci* 1985; 70: 129-138.

164. Cassady G. En Avery GB, The Small for date infant. Neonatology. Lippincott 2nd Ed, 1981; 262-286.
165. Berman JL, Justice P, Yi-Yungs D. The metabolism of 5-hydroxytryptamine (Serotonin) in the newborn. J. Pediatr 1965; 67: 603-608.
166. Lauder JM, Krebs H. Effects of p-chlorophenylalanine on time of neuronal origin during embryogenesis in the rat. Brain. Res 1976; 107: 638-644.
167. Pepeu G, Giarman NJ. Serotonin in the developing mammal. J. Gen. Physiol 1962; 45: 575,
168. Lindsay D, Poulson E, Robson JM. The effect of 5-hydroxytryptamine on pregnancy. J. Endocrinol 1963; 26: 85,
169. Hoshino Y, Yamamoto T, Kaneko M, Kumashiro H. Plasma free tryptophan concentration in autistic children. Brain. Dev 1986; 8: 424-427.
170. Van Praag HM. Significance of biochemical parameters in the diagnosis, treatment and prevention of depressive disorders. Biol. Psychiatry 1977; 12: 101-131.
171. Cohen JD, Shaywitz AB, Young JG, Carbonari MC, Nathanson AJ. Lieberman D, Bowers BM, Maas WJ. Central biogenic amine metabolism in children with the syndrome of chronic multiple tics of Gilles de la Tourette. Am. Acad. Child. Psychiatry 1979; 320-341.

172. Kilian M, Frey HH. Central monoamines and convulsive thresholds in mice and rats. *Neuropharmacology* 1973; 12: 681-692.
173. Loscher W, Pagliusi R, Muller F. L-5-hydroxytryptophan correlation between anticonvulsant effect and increases in levels of 5-hydroxyindoles in plasma and brain. *Neuropharmacology* 1984; 23: 1041-1048.
174. Goldman JO, Thibert RJ. Platelet serotonin levels in hyperactive children. *J. Pediatr. Psychol* 1979; 4: 285-295.
175. Ternauz JP, Mattei JF, Faudon M, Barrit MC, Ardisson JP, Giraud F. Peripheral and central 5-hydroxytryptamine in trisomy 21. *Life Sci* 1979; 25: 2017-2022.
176. Partington MW, Tu JB, Wong CY. Blood serotonin levels in severe mental retardation. *Develop. Med. Child. Neurol* 1973; 15: 616-627.

ABREVIATURAS

DNA	ácido desoxiribonucleico
DIU	desnutrición intrauterina
SNC	sistema nervioso central
5-HT	5-hidroxitriptamina
Trp	L-triptofano
$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa	sodio-potasio ATPasa
T5-H	triptofano 5-hidroxilasa
5-HTP	5-hidroxitriptofano
BH_4	tetrahidrobiopterina
BH_2	dihidrobiopterina
NADH	nicotinamida adenin dinucleótido reducido
DOPA-descarboxilasa	descarboxilasa de los aminoácidos aromáticos
BBB	barrera hemáto-encefálica
Phe	fenilalanina
Tyr	tirosina
Leu	leucina
Ile	Isoleucina
Val	valina
5-HIAA	ácido 5-hidroxiindoláctico

C	grupo de ratas control de alimentación
D	grupo de ratas con desnutrición proteínico-calórico
L	grupo de ratas con desnutrición por ligadura de arteria uterina.
LC	grupo de ratas control de las ligadas
RNA	ácido ribonucleico
OPT	ortoftaldialdehido
6-MPH ₄	6-metil 5,6,7,8 tetrahidro-biopterina
ACD	ácido cítrico-citrato de sodio y dextrosa
HCl	ácido clorhídrico
HClO ₄	ácido perclórico
NaOH	hidróxido de sodio
CO ₂	bióxido de carbono
N ₂	nitrógeno
TCA	ácido tricloroacético
FeCl ₃	cloruro férrico
CuSO ₄	sulfato de cobre

Fig. 1

PESO CORPORAL PRE Y POSTNATAL DE RATAS CON DESNUTRICION PROTEICO CALORICO (●) Y CONTROLES (▲).

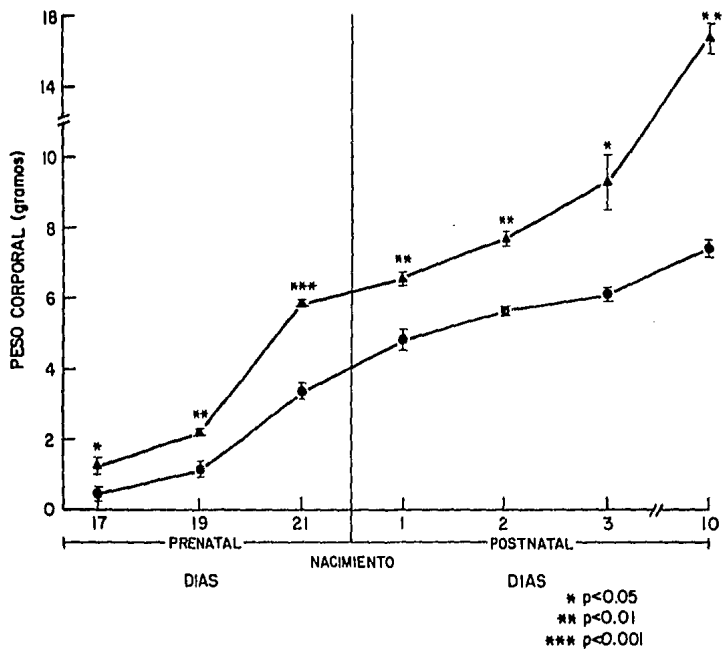


Fig. 2

PESO CORPORAL PRE Y POSTNATAL DE RATAS CON DESNUTRICION POR LIGADURA DE ARTERIA UTERINA (●) Y CONTROLES NO LIGADOS (▲).

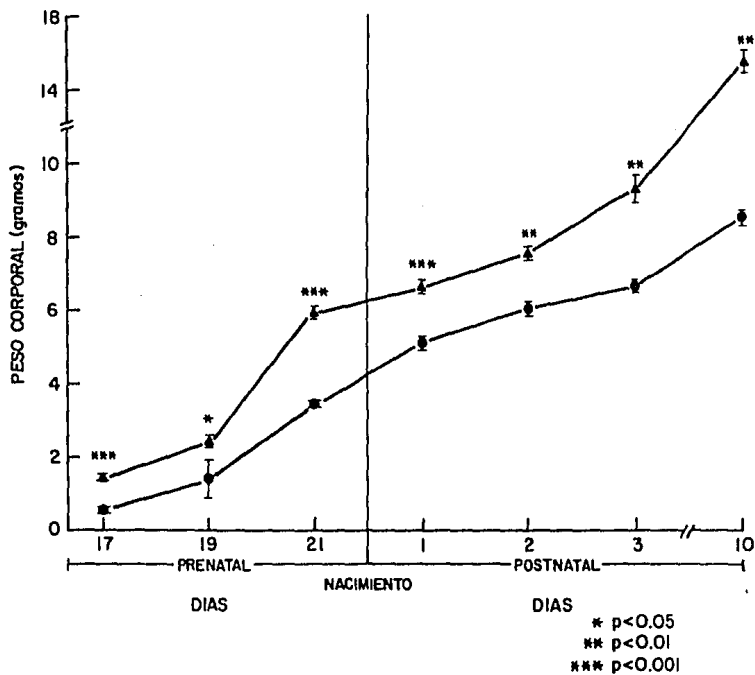
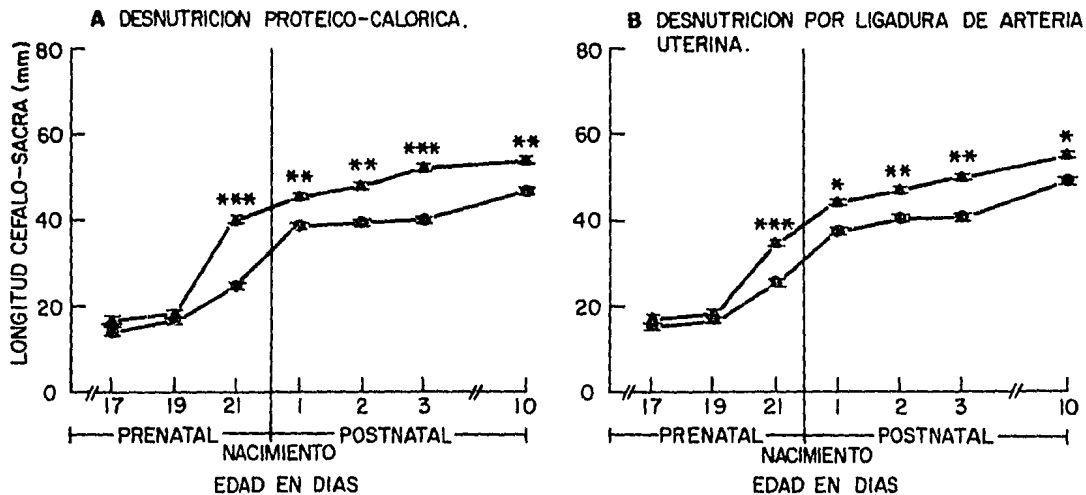


Fig. 3

LONGITUD CEFALO-SACRA EN RATAS CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (●) Y CONTROLES (▲)



* $p < 0.05$
** $p < 0.01$
*** $p < 0.001$

Fig. 4

PESO PRE Y POSTNATAL DEL CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION PROTEICO CALORICO GESTACIONAL (●) Y CONTROLES (▲)

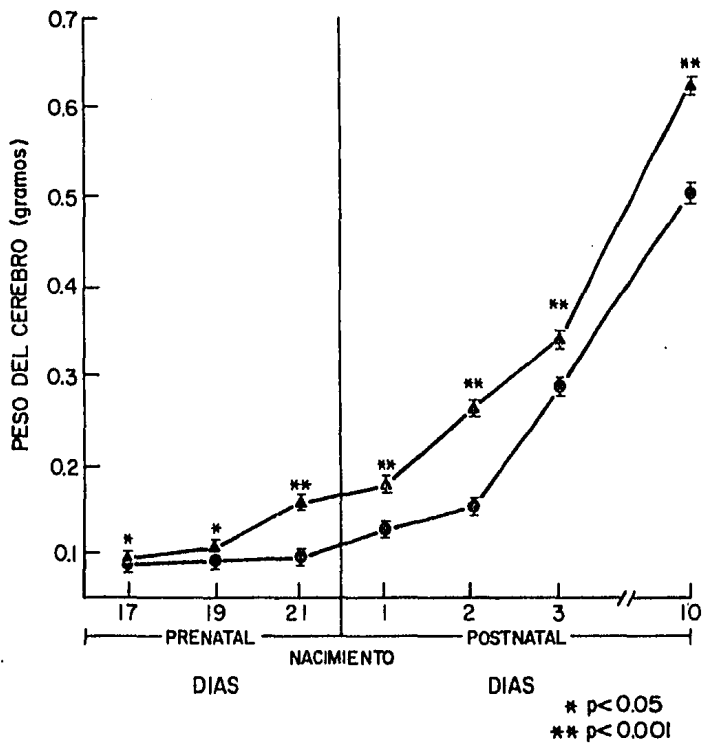
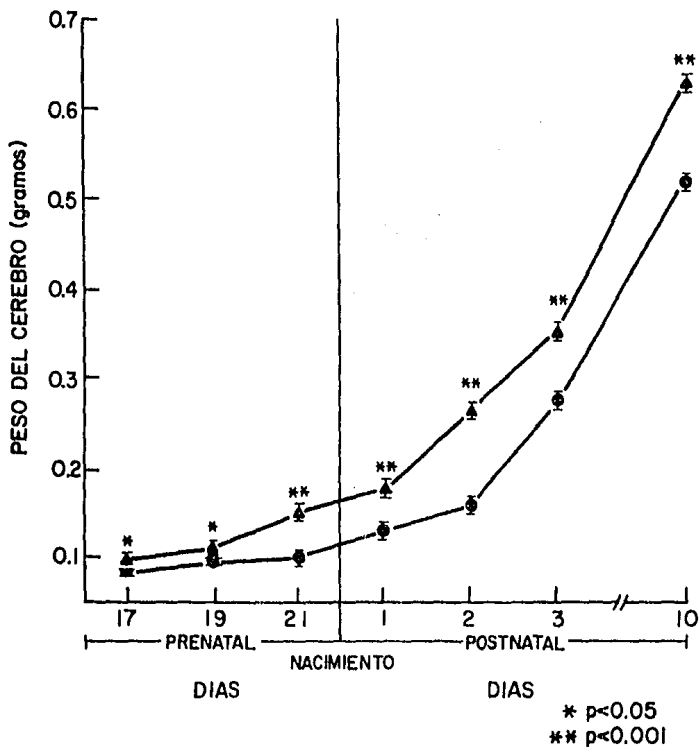


Fig. 5

PESO PRE Y POSTNATAL DEL CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION POR LIGADURA DE ARTERIA UTERINA (●) Y CONTROLES NO LIGADOS (▲).



T A B L A I

INCREMENTOS DE PESO CORPORAL, PESO CEREBRAL Y LONGITUD
 CEFALO-SACRA EN RATAS CON DESNUTRICION PROTEINICO
 CALORICO (D), POR LIGADURA DE ARTERIA UTERINA
 (L) Y CONTROLES (C, Lc)

INCREMENTOS	PESO CORPORAL %				LONGITUD CEFALO- SACRA %				PESO CEREBRAL %			
	D	C	L	Lc	D	C	L	Lc	D	C	L	Lc
17 a 21 DIAS (PRENATAL)	86	78.2	83.8	75.7	39.5	58.8	37	51.6	18.6	41.3	17.2	41.5
1 a 10 DIAS (POSTNATAL)	34.7	60.3	40.1	57.7	18.4	16.6	24	18	74.8	71.6	74.6	72.1
17 DIAS PRE- NATAL A 10 DIAS POSTNA- TAL.	93.6	92.3	93.3	90.9	67.8	69.8	67.9	68.5	84.2	85.3	84.2	85.4

T A B L A II

INDICE PESO CEREBRAL/PESO CORPORAL EN RATAS CON DESNUTRICION
 PROTEINICO CALORICO(D), POR LIGADURA DE ARTERIA UTERINA
 (L) Y CONTROLES (C, Lc)

EDAD (DIAS)		D	C	L	Lc
P R E N A T A L	17	.168	.071	.144	.064
	19	.078	.047	.062	.050
	21	.029	.026	.028	.026
P O S T N A T A L	1	.026	.026	.025	.026
	2	.027	.033	.026	.035
	3	.047	.036	.041	.038
	10	.067	.037	.060	.040

Fig. 6

CONCENTRACION PRE Y POSTNATAL DE PROTEINAS TOTALES EN CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION PROTEICO CALORICO GESTACIONAL (●) Y CONTROLES (▲).

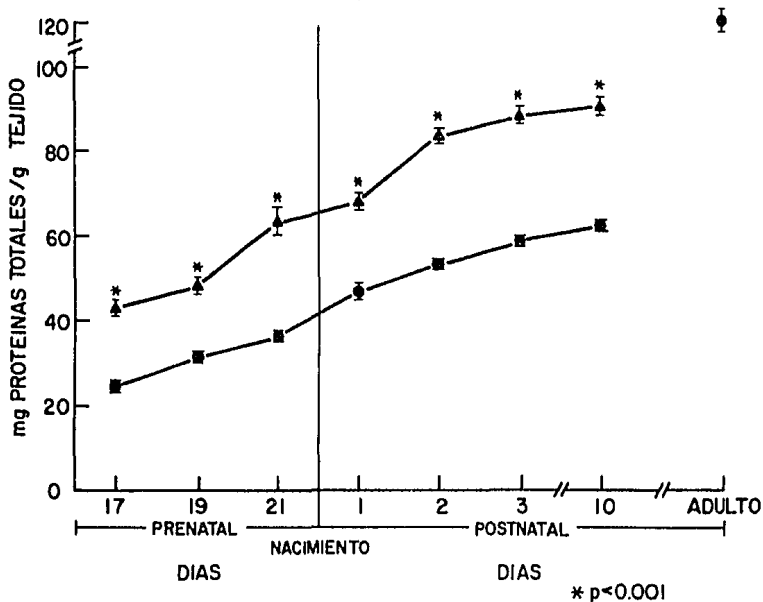


Fig. 7

CONCENTRACION PRE Y POSTNATAL DE PROTEINAS TOTALES EN CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION POR LIGADURA DE ARTERIA UTERINA (●) Y CONTROLES NO LIGADOS (▲).

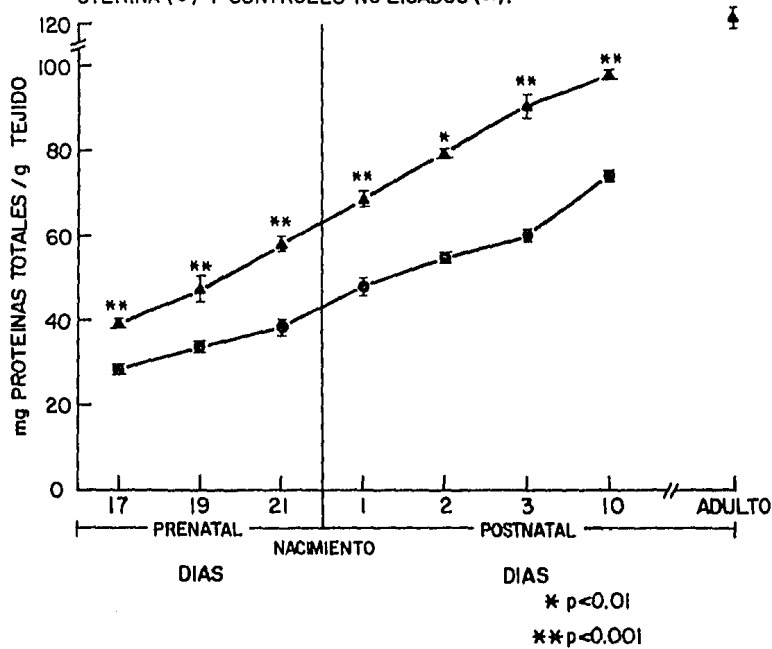
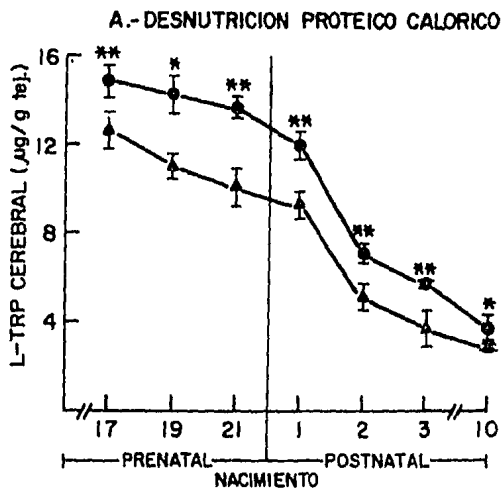
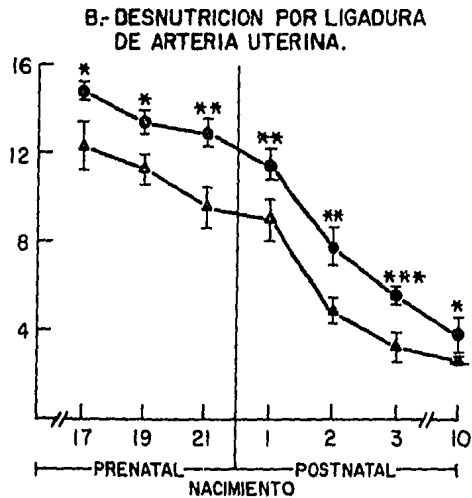


Fig. 8

CONCENTRACION PRE Y POSTNATAL DE TRIPTOFANO EN CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (●) Y CONTROLES (▲)



* $p < 0.05$
** $p < 0.01$



* $p < 0.05$
** $p < 0.01$
*** $p < 0.001$

Fig. 9

ACTIVIDAD PRE Y POSTNATAL DE TRIPTOFANO 5-HIDROXILASA EN CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION PROTEICO CALORICO GESTACIONAL (●) Y CONTROLES (▲)

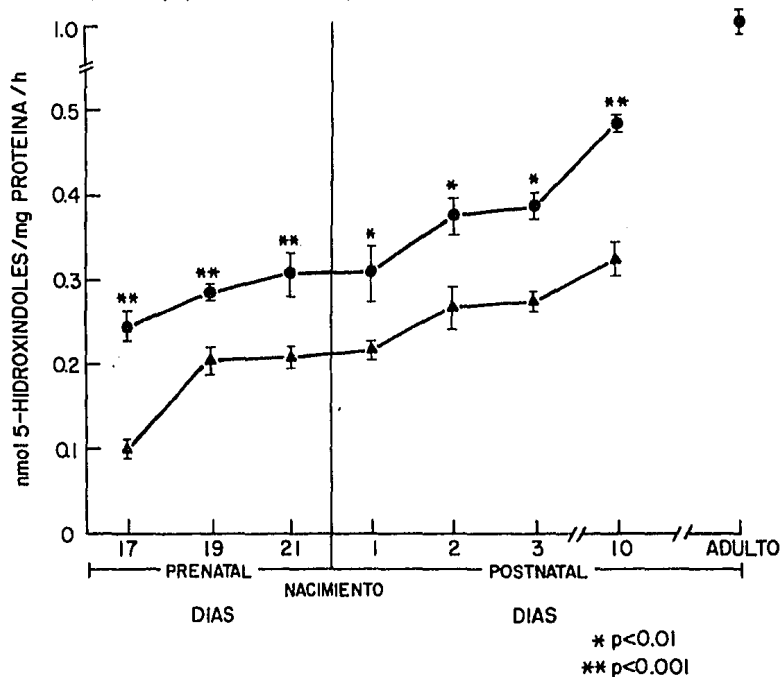


Fig. 10

ACTIVIDAD PRE Y POSTNATAL DE TRIPTOFANO 5-HIDROXILASA EN CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION POR LIGADURA DE ARTERIA UTERINA (●) Y CONTROLES NO LIGADOS (▲)

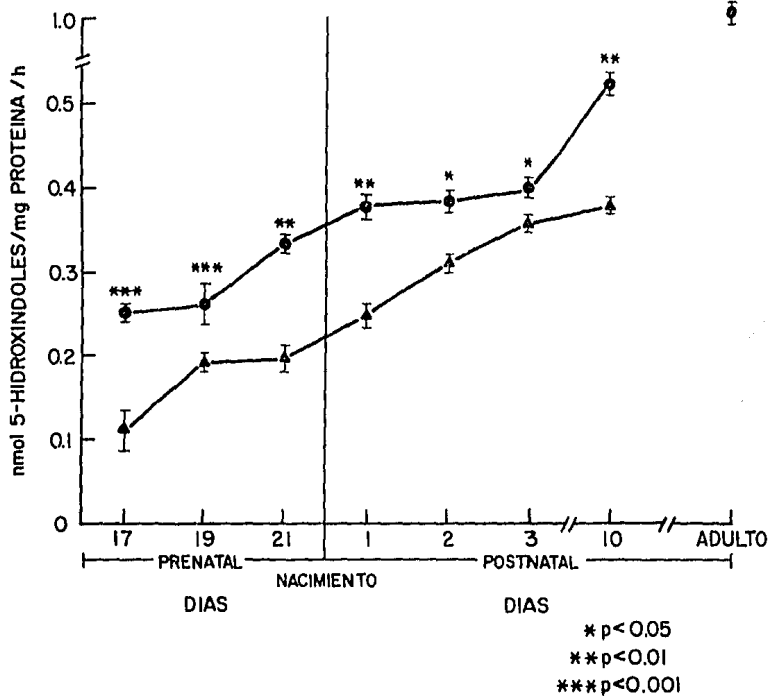


Fig. 11

CONCENTRACION PRE Y POSTNATAL DE 5-HIDROXITRIPTAMINA EN CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION PROTEICO CALORICO GESTACIONAL (●) Y CONTROLES (▲).

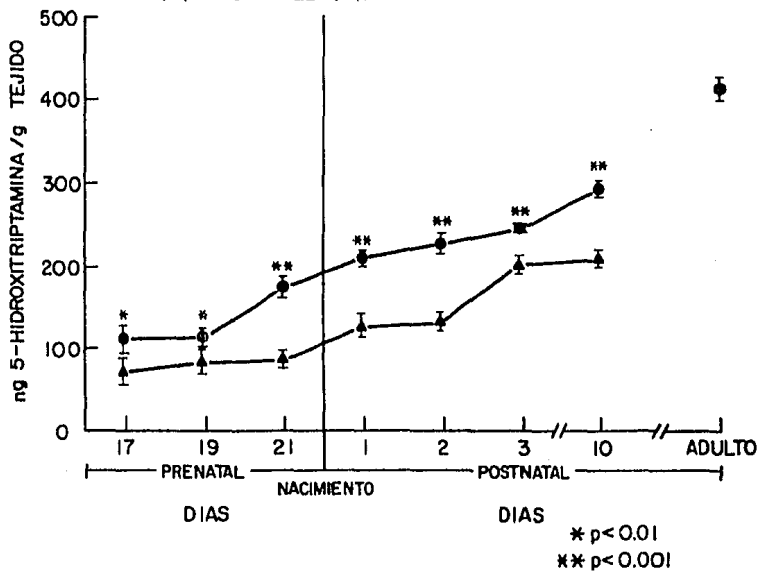


Fig. 12

CONCENTRACION PRE Y POSTNATAL DE 5-HIDROXITRIPTAMINA EN CEREBRO DE RATA CON DESNUTRICION POR LIGADURA DE ARTERIA UTERINA (●) Y CONTROLES NO LIGADOS (▲).

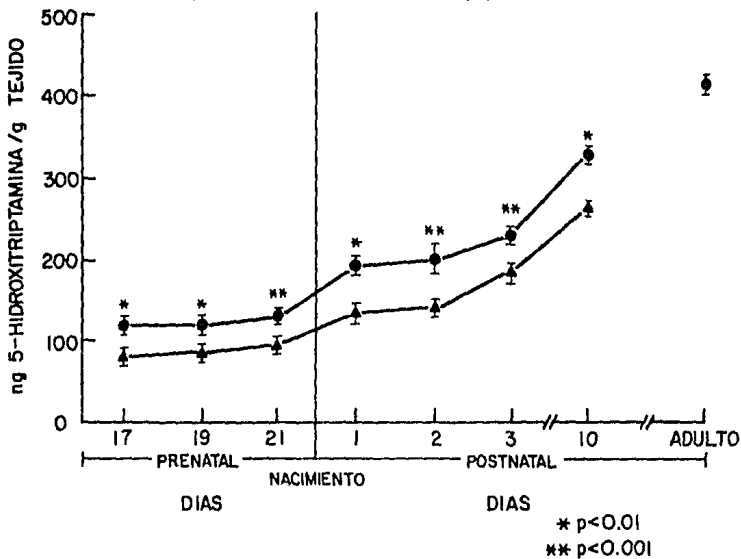


TABLA III. DATOS CLINICOS DE RECIEN
NACIDOS PRETERMINO*

	NIÑOS CON DESNUTRICION		NIÑOS CONTROLES		P
	M	F	M	F	
EDAD GESTACIONAL (SEMANAS)	36.33 [±] .51		36.08 [±] .79		NS
SEXO	M	F	M	F	
1 DIA	3	3	4	8	
15 DIAS	2	1	0	4	
28 DIAS	2	1	0	4	
PESO CORPORAL (GRAMOS)					
1 DIA	1954.1 [±] 140.9		2266.6 [±] 236.7		.01
15 DIAS	2050 [±] 217.9		2800 [±] 216.0		.01
28 DIAS	2216.6 [±] 144.3		3170 [±] 187.7		.001
LONGITUD (CENTIMETROS)					
1 DIA	44.1 [±] 2.04		45.87 [±] 2.00		.05
15 DIAS	45 [±] 1.00		49.0 [±] .81		.001
28 DIAS	46.8 [±] 1.25		51.8 [±] .62		.001
PERIMETRO CEFALICO (CENTIMETROS)					
1 DIA	30.75 [±] 1.08		32.2 [±] 1.15		.01
15 DIAS	31 [±] 1.73		34 [±] .81		.01
28 DIAS	32.6 [±] .57		35.2 [±] .86		.01

* 33 A 37 SEMANAS DE EDAD GESTACIONAL.

TABLA IV, DATOS CLINICOS DE RECIEN
 NACIDOS A TERMINO

	NIÑOS CON DESNUTRICION		NIÑOS CONTROLES		P
	M	F	M	F	
EDAD GESTACIONAL (SEMANAS)	39.68 [±] .94		39.84 [±] .55		NS
SEXO	M	F	M	F	
1 DIA	11	11	14	11	
15 DIAS	7	4	4	6	
28 DIAS	3	3	3	5	
PESO CORPORAL (GRAMOS)					
1 DIA	2234.5 [±] 169		3144.8 [±] 236.4		.001
15 DIAS	2479.5 [±] 351		3487 [±] 431.9		.001
28 DIAS	2845 [±] 451.8		3706.8 [±] 378.6		.001
LONGITUD (CENTIMETROS)					
1 DIA	47.47 [±] 1.34		51.16 [±] .78		.001
15 DIAS	49.63 [±] 1.58		52.7 [±] 1.41		.001
28 DIAS	51.58 [±] 2.74		53.6 [±] 1.86		NS
PERIMETRO CEFALICO (CENTIMETROS)					
1 DIA	32.47 [±] .82		34.54 [±] 1.29		.001
15 DIAS	33.22 [±] .87		35.55 [±] 1.42		.001
28 DIAS	34.33 [±] .68		36.18 [±] 1.06		.001

T A B L A . V
 RELACION PESO-TALLA E INDICE DE MILLER EN RECIEN NACIDOS
 PRETERMINO 33 A 37 SEMANAS CON DESNUTRICION
 INTRAUTERINA (D) Y CONTROLES (C)

EDAD (DIAS)	RELACION PESO-TALLA		INDICE DE MILLER	
	D	C	D	C
1	2.27	2.34	1.43	1.42
15	2.24	2.37	1.45	1.44
28	2.16	2.28	1.43	1.47

T A B L A V I

RELACION PESO-TALLA E INDICE DE MILLER EN RECIEN NACIDOS
A TERMINO CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (D) Y
CONTROLES (C)

EDAD (DIAS)	RELACION PESO-TALLA		INDICE DE MILLER	
	D	C	D	C
1	2.08	2.34	1.46	1.48
15	2.02	2.38	1.49	1.48
28	2.07	2.40	1.50	1.48

TABLA VII. CONCENTRACION DE PROTEINAS TOTALES Y 5-HIDROXITRIPTAMINA
 EN PLASMA DE RECIEN NACIDOS PRETERMINOS 33 A 37 SEMANAS
 CON DESNUTRICION INTRAUTERINA Y CONTROLES

EDAD DIAS	PROTEINAS TOTALES			5-HIDROXITRIPTAMINA		
	D*	C**	P	D	C	P
1	3.18 [±] .95 N=7	4.25 [±] 1.04 N=12	.01	.053 [±] .017 N=7	.062 [±] .044 N=12	NS
15	3.85 [±] .04 N=4	4.53 [±] .35 N=4	.001	.077 [±] .005 N=4	.069 [±] .009 N=4	NS
28	4.66 [±] .53 N=4	5.09 [±] .24 N=4	.05	.042 [±] .005 N=4	.123 [±] .020 N=3	.001

* D-DESNUTRIDOS

** C-CONTROLES

TABLA VIII. CONCENTRACION DE PROTEINAS TOTALES Y
 5-HIDROXITRIPTAMINA EN PLASMA DE RECIEN
 NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION
 INTRAUTERINA Y CONTROLES

EDAD (DIAS)	PROTEINAS TOTALES g/dL $\bar{x} \pm DS$			5-HIDROXITRIPTAMINA $\mu\text{g}/\text{mL}$ $\bar{x} \pm DS$		
	D*	C**	p	D	C	p
1	3.29 [±] .74 N=22	4.64 [±] .93 N=25	.005	.058 [±] .041 N=22	.059 [±] .034 N=25	NS
15	3.18 [±] .73 N=13	5.26 [±] .89 N=10	.005	.066 [±] .026 N=11	.078 [±] .054 N=9	NS
28	3.55 [±] .59 N=7	5.62 [±] 1.03 N=8	.001	.066 [±] .014 N=7	.109 [±] .034 N=8	.001

* D-DESNUTRIDOS

** C-CONTROLES

TABLA IX. CONCENTRACION DE TRIPTOFANO EN PLASMA DE RECIEN
 NACIDOS PRETERMINO 33 A 37 SEMANAS CON
 DESNUTRICION INTRAUTERINA Y CONTROLES

EDAD (DIAS)	LIBRE (L)		P	TOTAL (T)		P	UNIDO A PROTEINA		p*	L/T		X t Ld vs Lc
	D*	C**		D	C		D	C		D	C	
	\bar{x} ± N	\bar{x} ± N		\bar{x} ± N	\bar{x} ± N		\bar{x} ± N	\bar{x} ± N		\bar{x} ± N	\bar{x} ± N	
1	12.57 ± .53 N=7	9.16 ± 1.52 N=12	.001	28.71 ± 3.03 N=7	28.58 ± 1.62 N=12	NS	16.14 ± 1.85 N=7	19.41 ± 0.97 N=12	.01	.43	.32	37
15	12.5 ± 1.0 N=4	9.0 ± 2.16 N=4	.01	35.5 ± 1.29 N=4	35.75 ± .95 N=4	NS	23 ± .81 N=4	26.75 ± 1.70 N=4	.01	.35	.25	38
28	13.75 ± .95 N=4	11.75 ± 1.25 N=4	.02	37.5 ± 1.0 N=4	38 ± .81 N=4	NS	22.75 ± .50 N=4	26.25 ± 1.70 N=4	.01	.36	.30	17

* D-DESNUTRIDOS

** C-CONTROLES

TABLA X. CONCENTRACION DE TRIPTOFANO EN PLASMA DE
 RECIEN NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION
 INTRAUTERINA Y CONTROLES

EDAD (DIAS)	LIBRE (L)		P	TOTAL (T)		P	UNIDO A PROTEINA		P	L/T		Z † Id vs Lc
	D*	C**		D	C		D	C		D	C	
	μ MOL/L $\bar{X} \pm$ DS											
1	13.31	10.12	.005	28.95	28.32	NS	16.22	18.12	.005	.45	.35	31
	\pm	\pm		\pm	\pm		\pm	\pm				
	1.28 N=22	1.26 N=25		1.98 N=22	1.40 N=25		0.57 N=22	0.61 N=25				
15	13.53	10.80	.005	38.69	37.9	NS	23.92	27.4	.04	.34	.28	25
	\pm	\pm		\pm	\pm		\pm	\pm				
	1.33 N=13	1.03 N=10		4.21 N=13	2.88 N=10		1.81 N=13	1.06 N=10				
28	18.71	14.50	.005	40.14	40.87	NS	21.42	26.37	.005	.46	.35	29
	\pm	\pm		\pm	\pm		\pm	\pm				
	1.38 N=7	1.51 N=8		1.069 N=7	1.45 N=8		2.14 N=7	1.76 N=8				

* D-DESNUTRIDOS

** C-CONTROLES

Fig. 13

CONCENTRACION DE TRIPTOFANO LIBRE Y UNIDO ALBUMINA EN RECIEN NACIDOS PRETERMINOS 33 A 37 SEMANAS CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (●) Y CONTROLES (▲)

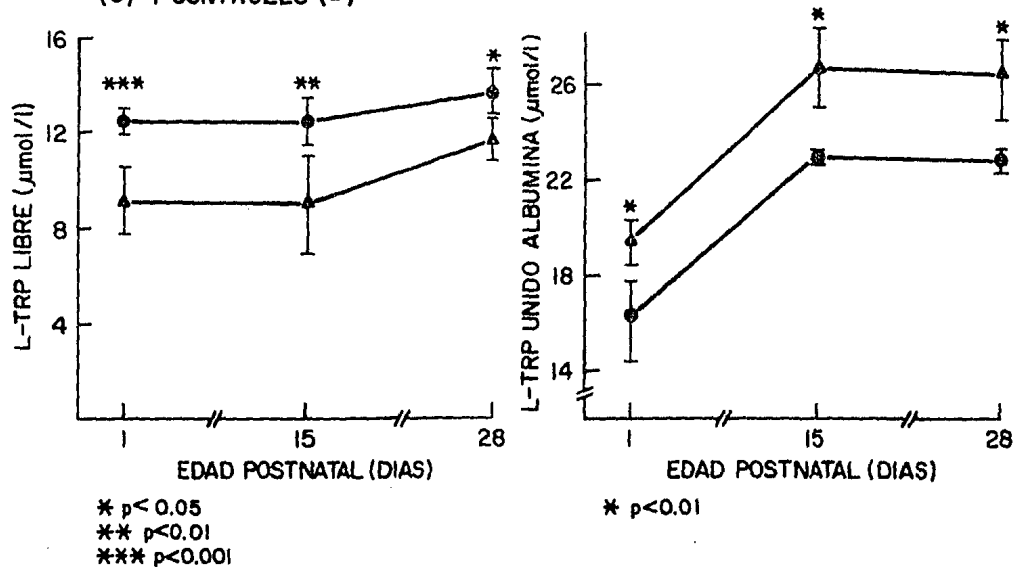


Fig. 14

CONCENTRACION DE TRIPTOFANO LIBRE Y UNIDO ALBUMINA EN RECIEN NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (●) Y CONTROLES (▲).

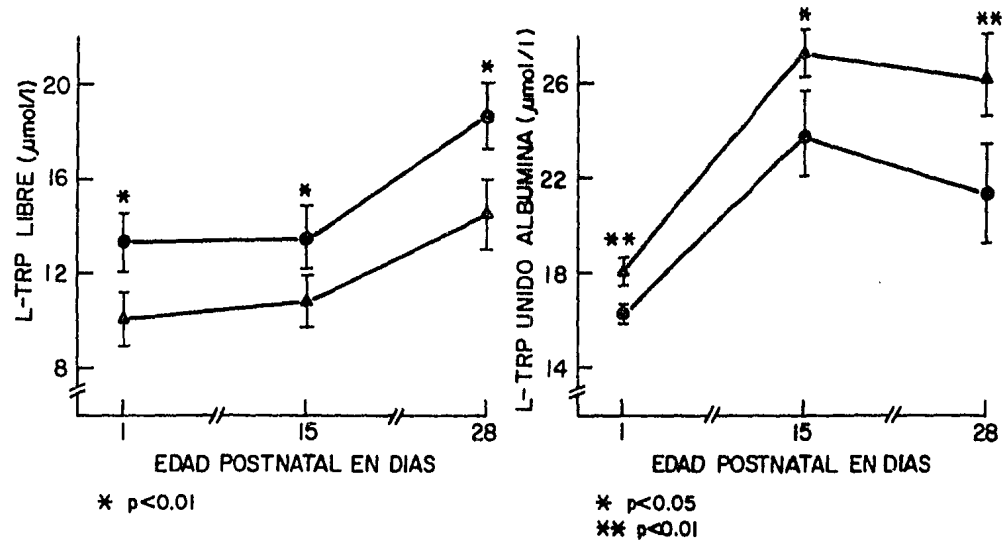


TABLA XI., CONCENTRACION DE AMINOACIDOS NEUTROS EN PLASMA DE
 RECIEN NACIDOS PRETERMINO 33 A 37 SEMANAS CON
 DESNUTRICION INTRAUTERINA Y CONTROLES

EDAD (días)	μMOL/L					
	DESNUTRIDOS			CONTROLES		
	1	15	28	1	15	28
AMINOACIDO	N=7	N=4	N=4	N=12	N=4	N=4
VALINA	83.02 [±] 29.39	88.25 [±] 5.67	80.6 [±] 15.28	85.66 [±] 27.34	83.35 [±] 27.86	98.45 [±] 21.34
ISOLEUCINA	39.65 [±] 12.80	70.75 [±] 2.21 ^C	42.15 [±] 6.54 ^A	43.86 [±] 12.22	38.95 [±] 8.75 ^C	63.35 [±] 18.18 ^A
LEUCINA	60.91 [±] 24.28	101.25 [±] 4.85 ^C	66.75 [±] 12.68	62.18 [±] 16.80	61.35 [±] 9.76 ^C	88.1 [±] 22.65
TIROSINA	58.8 [±] 11.97	92.75 [±] 7.18 ^A	48.2 [±] 8.44 ^B	72.6 [±] 25.73	69.55 [±] 19.08 ^A	78.55 [±] 11.95 ^B
FENILALANINA	47.74 [±] 9.80 ^A	55.75 [±] 5.43 ^B	34.5 [±] 6.19 ^B	56.98 [±] 9.64 ^A	44.0 [±] 2.25 ^B	49.35 [±] 9.24 ^B

A - p<0.05

B - p<0.01

C - p<0.001

TABLA XII. CONCENTRACION DE AMINOACIDOS NEUTROS EN
PLASMA DE RECIEN NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION
INTRAUTERINA Y CONTROLES

EDAD (días)	μMOL/L					
	DESNUTRIDOS			CONTROLES		
	1 N=20	15 N=12	28 N=6	1 N=25	15 N=10	28 N=8
VALINA	64.33 [±] 9.76 ^A	103.5 [±] 50.37	61.0 [±] 37.33 ^B	74.61 [±] 17.79 ^A	86.06 [±] 23.23	129.6 [±] 67.27 ^B
ISOLEUCINA	40.41 [±] 13.48	53.2 [±] 19.39	41.04 [±] 32.42	36.3 [±] 6.65	41.9 [±] 7.63	58.72 [±] 9.94
LEUCINA	48.12 [±] 7.13	78.93 [±] 27.07	55.16 [±] 44.8	51.74 [±] 8.16	64.68 [±] 11.19	90.2 [±] 19.72
TIROSINA	60.38 [±] 13.37	62.3 [±] 20.17	52.13 [±] 23.2	54.23 [±] 15.99	57.78 [±] 17.29	57.42 [±] 6.42
FENILALANINA	46.19 [±] 9.44	45.48 [±] 9.53	43.93 [±] 10.34	49.12 [±] 9.36	39.34 [±] 9.60	48.17 [±] 3.85

A - p < 0.01

B - p < 0.05

Fig. 15

CONCENTRACION DE AMINOACIDOS NEUTROS EN PLASMA DE RECIEN NACIDOS PRETERMINOS 33 A 37 SEMANAS CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (A) Y CONTROLES (B).

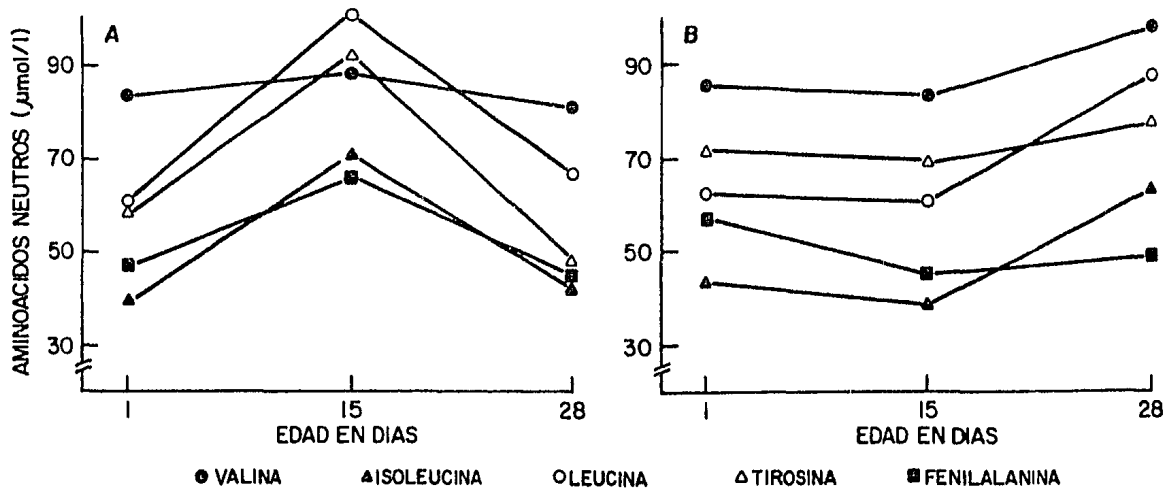
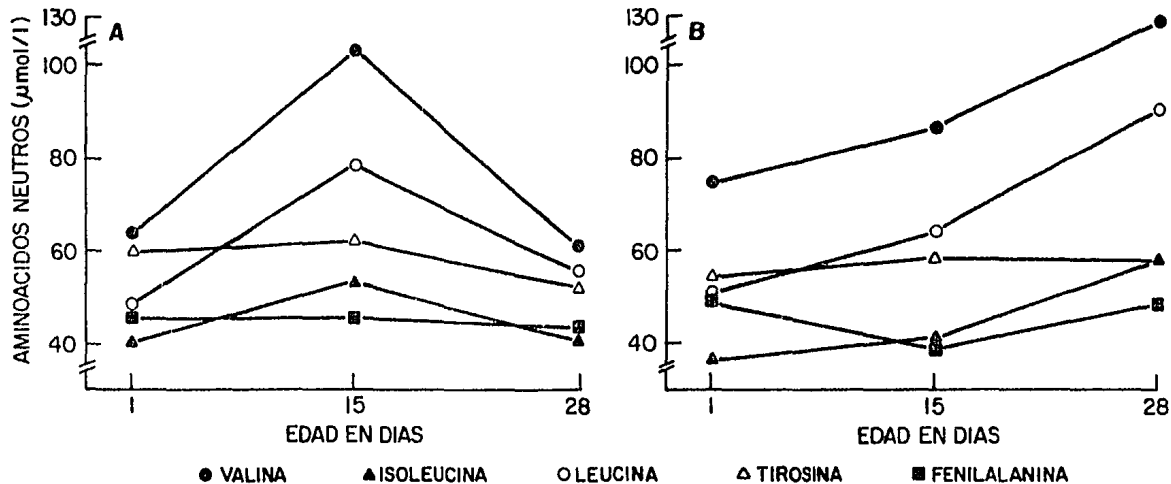


Fig. 16

CONCENTRACION DE AMINOACIDOS NEUTROS EN PLASMA DE RECIEN NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (A) Y CONTROLES (B).



**TABLA XIII. CONCENTRACION DE OTROS AMINOACIDOS EN PLASMA DE
 RECIEN NACIDOS PRETERMINO 33 A 37 SEMANAS CON
 DESNUTRICION INTRAUTERINA Y CONTROLES**

AMINOACIDO	$\mu\text{MOL/L}$						
	DESNUTRIDOS			$\bar{X} \pm \text{DS}$	CONTROLES		
	1 N=7	15 N=4	28 N=4	1 N=12	15 N=4	28 N=4	
GLUTAMICO	69.68 \pm 29.83	56.25 \pm 4.5	82.65 \pm 8.96	82.36 \pm 42.68	76.85 \pm 24.9	81.15 \pm 16.45	
PROLINA	113.54 \pm 27.02	97.7 \pm 23.59	84.75 \pm 7.27 ^A	115.28 \pm 39.4	99 \pm 49.06	104.2 \pm 17.9 ^A	
GLICINA	164.4 \pm 55.68	90.75 \pm 6.39	138.3 \pm 12.53	184.1 \pm 64.66	130.8 \pm 55.18	137.1 \pm 41.2	
ALANINA	135.4 \pm 39.47	172.2 \pm 5.18 ^B	166.6 \pm 6.83	146.8 \pm 41.09	104.4 \pm 9.49 ^B	148.3 \pm 59.6	

A - p < 0.05

B - p < 0.001

TABLA XIV. CONCENTRACION DE OTROS AMINOACIDOS EN PLASMA DE
 RECIEN NACIDOS PRETERMINO 33 A 37 SEMANAS CON
 DESNUTRICION INTRAUTERINA Y CONTROLES

EDAD (DIAS)	μMOL/L						
	1 N=7	DESNUTRIDOS 15 N=4	28 N=4	$\bar{X} \pm DS$	CONTROLES 1 N=12	15 N=4	28 N=4
AMINOACIDO							
CISTINA	43.28±15.56	15.25±1.5 ^A	27.9±1.8	44.03±12.71	34.9±13.24 ^A	27.9±4.63	
METIONINA	36.85±14.27	29.25±.95	27.8±5.24	33.68±8.64	28 ± 8.13	35.7±7.54	
LISINA	72.11±55.12	78.5 ±1.73 ^B	36.95±12.86 ^B	81.21±34.56	55.2±7.42 ^B	77.3±10.97 ^B	
ARGININA	68.25±37.41	38.5 ±3.41	57.85±21.21	47.85±24.13	47 ±17.24	73.95±18.06	

A - p < 0.01

B - p < 0.001

TABLA XV. CONCENTRACION DE OTROS AMINOACIDOS EN PLASMA
DE RECIEN NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION
INTRAUTERINA Y CONTROLES

EDAD (DIAS)	μ MOL/L					
	DESNUTRIDOS			CONTROLES		
	1	15	28	1	15	28
AMINOACIDO	N=20	N=12	N=6	N=25	N=10	N=8
GLUTAMICO	72.41 [±] 26.87	80.01 [±] 30.26	37.13 [±] 16.05 ^C	68.8 [±] 32.89	89.84 [±] 20.95	94.95 [±] 28.18 ^C
PROLINA	90.85 [±] 22.69	114.13 [±] 40.83	49.8 [±] 21 ^B	102.98 [±] 28.75	93.86 [±] 22.76	110.9 [±] 30.71 ^B
GLICINA	144.2 [±] 40.58 ^C	146.34 [±] 88.51	81.83 [±] 59.10 ^A	201.5 [±] 65.11 ^C	114.4 [±] 29.23	138.02 [±] 43.63 ^A
ALANINA	153.75 [±] 61.04	178.38 [±] 106.47	86.7 [±] 58.16 ^C	162 [±] 45.8	143.16 [±] 58.33	205.7 [±] 65.5 ^C

A - P<0.05

B - F<0.01

C - p<0.001

TABLA XVI, CONCENTRACION DE OTROS AMINOACIDOS EN PLASMA
DE RECIEN NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION
INTRAUTERINA Y CONTROLES

AMINOACIDO	μ MDL/L					
	.DESNUTRIDOS			CONTROLES		
	1	15	28	1	15	28
EDAD (DIAS)	N=20	N=12	N=6	N=25	N=10	N=8
	$\bar{X} \pm DS$					
METIONINA	27.85 ⁺ 4.90 ^A	31.06 ⁺ 10.70	25 ⁺ 16.01 ^B	30.75 ⁺ 5.13 ^A	26.95 ⁺ 5.59	36.5 ⁺ 13.67 ^B
CISTINA	35.57 ⁺ 9.24	36.16 ⁺ 13.01	19.86 ⁺ 9.79	38.32 ⁺ 11.72	33.94 ⁺ 8.56	38.12 ⁺ 15.98
LISINA	62.65 ⁺ 24.21 ^B	54.86 ⁺ 30.92 ^A	42.03 ⁺ 13.87 ^B	80.88 ⁺ 27.94 ^B	79.56 ⁺ 37.24 ^A	125.3 ⁺ 82.3 ^B
ARGININA	35 ⁺ 11.70 ^A	54.74 ⁺ 27.77	41.52 ⁺ 6.03 ^A	44.93 ⁺ 18.93 ^A	54.96 ⁺ 28.83	75.65 ⁺ 34.59 ^A

A - p<0.05

B - p<0.01

Fig. 17

CONCENTRACION DE OTROS AMINOACIDOS EN PLASMA DE RECIEN NACIDOS PRETERMINO 33 A 37 SEMANAS CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (A) Y CONTROLES (B)

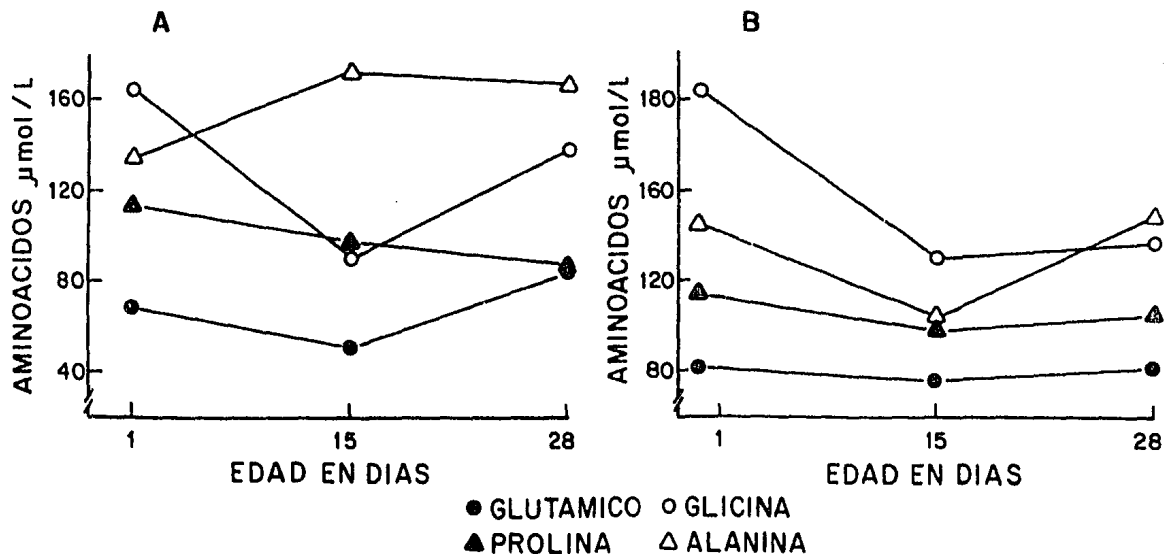


Fig. 18

CONCENTRACION DE OTROS AMINOACIDOS EN PLASMA DE RECIEN NACIDOS PRETERMINO 33 A 37 SEMANAS CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (A) Y CONTROLES (B)

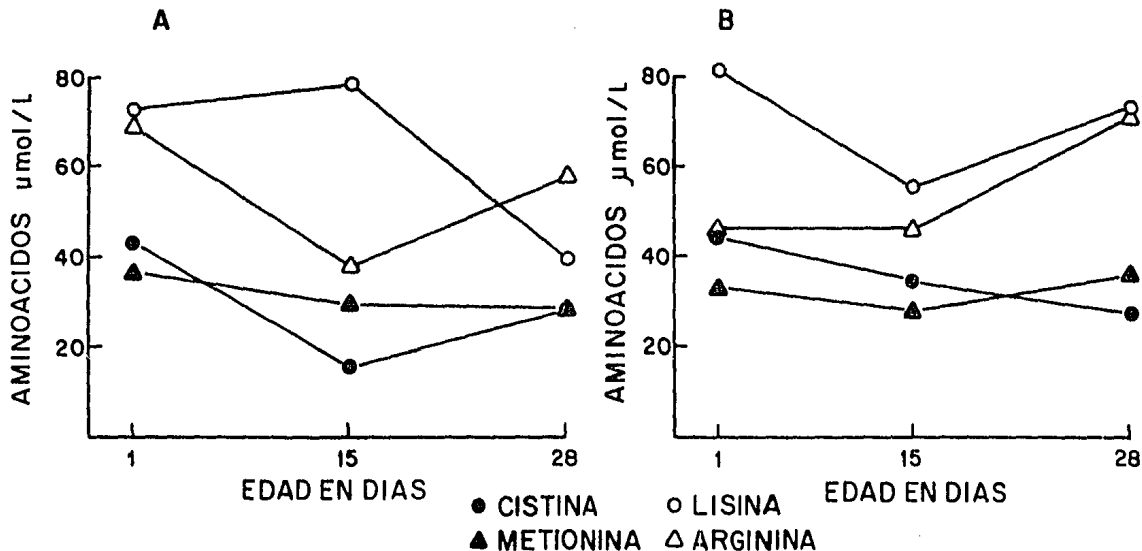


Fig. 19

CONCENTRACION DE OTROS AMINOACIDOS EN PLASMA DE RECIEN NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (A) Y CONTROLES (B)

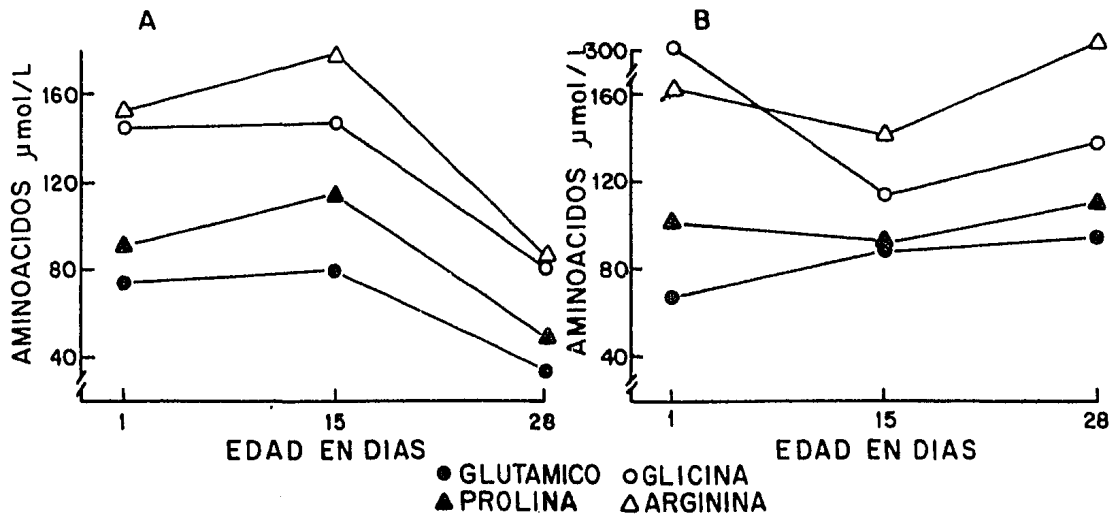


Fig. 20 .

CONCENTRACION DE OTROS AMINOACIDOS EN PLASMA DE RECIEN NACIDOS A TERMINO CON DESNUTRICION INTRAUTERINA (A) Y CONTROLES (B)

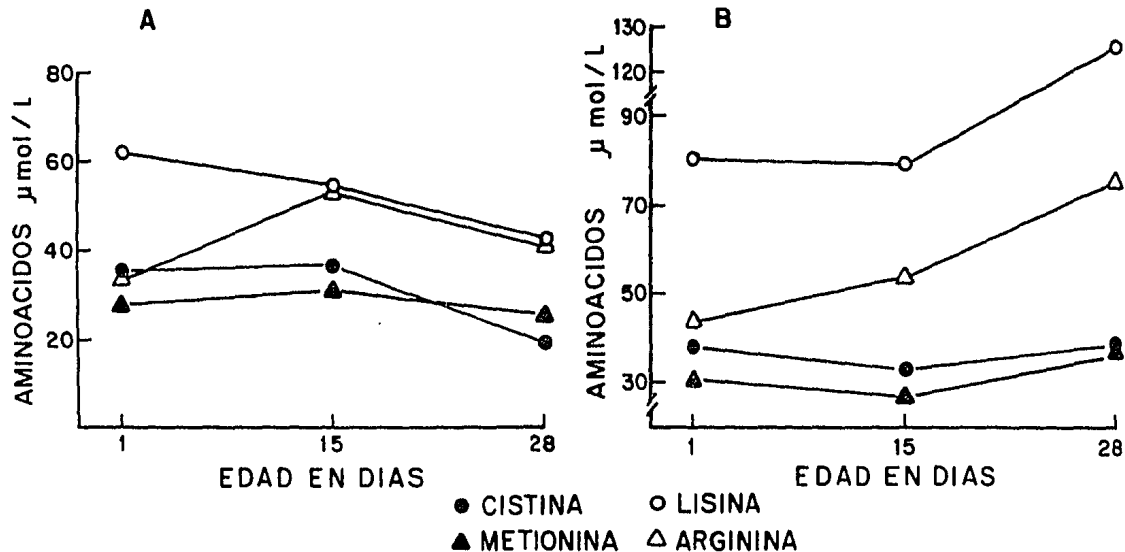


TABLA XVII
 RELACION L-TRIPTOFANO LIBRE / AMINOACIDOS NEUTROS EN
 PLASMA DE RECIEN NACIDOS CON DESNUTRICION
 INTRAUTERINA (D) Y CONTROLES (C)

EDAD DIAS	RN PRETERMINO*		RN A TERMINO	
	D	C	D	C
1	.043	.028	.051	.038
15	.031	.030	.039	.037
28	.050	.031	.073	.037

* RN PRETERMINO DE 33 A 37 SEMANAS
 DE EDAD GESTACIONAL.