

# Metabolitos del ácido araquidónico en LCR en la encefalopatía hipóxico-isquémica neonatal

Arachidonic acid metabolites in CSF in the neonatal hypoxi-ischemic encephalopathy

JIMÉNEZ, R.

Departamento de Pediatría. Universidad de Barcelona.

## RESUMEN

Los resultados preliminares parecen indicar que la asfisia perinatal modifica la síntesis cerebral de eicosanoides activándose la formación de TXB<sub>2</sub>. Por lo tanto, puede hipotetizarse que la mayor pérdida neuronal de los neonatos con formas severas de EHI es debida a la combinación de los efectos de la hipoxia-isquemia y de reacciones bioquímicas que se activan o persisten durante la reoxigenación-reperusión, una de las cuales es la activación del metabolismo del ácido araquidónico. El desequilibrio entre los eicosanoides vasodilatadores y los vasoconstrictores puede reducir el FSC con progresión de la muerte neuronal después de la asfisia.

**Palabras clave:** Eicosanoides. Isquemia Neonatal.

## ABSTRACT

The preliminary results reported here suggest that perinatal asphyxia modifies the synthesis of eicosanoids in the brain mainly the formation of TXB<sub>2</sub>. Therefore, it is hypothesized that the major neonatal neuronal loss due to severe EHI is a result of both the effects of hypoxia-ischemia and enhancement of the arachidonic acid pathway during reperfusion. The imbalance between vasoactive eiconsoids may reduce FSC with progression of neuronal death after asphyxia.

**Key words:** Eicosanoids. Neonatal Ischemia.

Recibido: 28-11-96

Aceptado: 12-12-96

BIBLID [0004-2927(1996) 37:4; 989-996]

## INTRODUCCIÓN

La encefalopatía hipóxico-isquémica (EHI) sigue siendo una de las principales causas prevenibles de morbimortalidad en el recién nacido (RN) a término. Aunque la incidencia de la asfisia perinatal ha descendido, las tasas

de parálisis cerebral infantil y de otras secuelas neurosensoriales permanecen estables desde hace veinte años. Mejorar el pronóstico de los neonatos con EHI requiere tratamientos capaces de prevenir o reducir la muerte neuronal. En la actualidad, la liberación de aminoácidos excitadores, la formación de radicales oxigénicos y la modificación del metabolismo del ácido araquidónico son tres factores involucrados en la necrosis neuronal resultado de un episodio de hipoxia-isquemia cerebral. En este campo, a pesar de la amplia experiencia en modelos animales pocos trabajos de investigación clínica han puesto a prueba los resultados experimentales. Este trabajo fue diseñado para evaluar la síntesis encefálica de eicosanoides en el RN asfíctico e investigar si existe relación entre los perfiles obtenidos en líquido cefalorraquídeo (LCR) y la aparición y gravedad de la EHI.

## PACIENTES Y MÉTODOS

### Casos

Se incluyeron en el estudio 40 RN a término de peso adecuado que cumplieron uno o más de los criterios de asfixia perinatal de las tabla I y II. En función del estado neurológico, siguiendo los criterios de Amiel-Tison y de los hallazgos electroencefalográficos según los criterios de Dreyfus-Brisac, el grupo de estudio se dividió en tres subgrupos: sin EHI (n=10); con EHI leve (n=12) y con EHI moderada-grave (n=8). El grupo control está formado por 10 RN ingresados con el diagnóstico de "sospecha de infección" con hemocultivo, urinocultivo, cultivo de LCR estériles y serologías específicas negativas. Se excluyeron aquellos RN con malformaciones mayores,

Tabla I.—Criterios de inclusión de los grupos de estudio

|                 |  |
|-----------------|--|
| SFA             | — Alteraciones de la frecuencia cardíaca fetal<br>pulso saltatorio<br>taquicardia (FC>160)<br>bradicardia (FC<120)<br>pulso silente<br>automatismo cardíaco<br>Desaceleración variable<br>Desaceleración tipo II<br>— Acidosis fetal: pH microtoma <7.20<br>— Aguas meconiales secundarias excepto en la presentación de nalgas.<br>— Acidosis en arteria umbilical: pH<7,15 y EB<-8 |
| Anoxia neonatal | — Test de Apgar 1 minuto < 4<br>— Test de Apgar 5 minuto < 7<br>— Reanimación enérgica (intubación y ventilación asistida + de 2 min.)   |

Tabla II.—Criterios de inclusión del control

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Sospecha de infección | Cultivo y serología negativa                                  |
| Amniorrhexis          | Aguas malolientes<br>Ruptura prolongada de membranas (> días) |
| Patología materna     | Toxoplasmosis materna durante la gestación<br>Sífilis materna |

cromosomopatías, enfermedades neuromusculares o tratamiento materno con corticoides, barbitúricos, anti-inflamatorios no esteroideos y ácido acetilsalicílico en las dos semanas previas al parto. También se excluyeron los neonatos con una cifra de hematíes en LCR superior a 1500/mm<sup>3</sup> y los sometidos a ventilación mecánica.

### Obtención de LCR

Antes de la punción se controlaron aquellas variables que pueden modificar la síntesis de eicosanoides descartándose, la hipoglucemia (<40 mg/dL), hipotensión (presión arterial media < 40 mmHg), hipoxemia e hipercapnea (pO<sub>2</sub> > 35 mm Hg; pCO<sub>2</sub> < 45 mmHg en sangre capilar arterializada) y acidosis (pH < 7.30). Con el paciente sentado se obtuvieron 0,5 mL de LCR en tubos de polipropileno con 50 uL de EDTA dipotásico en solución acuosa (2.4 mg/mL). La muestra fue inmediatamente congelada a 80° hasta su análisis. En todos los casos se analizó: glucorraquia, proteinorraquia y celularidad.

### Registro electroencefalográfico

Se realizó en todos los RN asfícticos a las 24 horas de vida. En aquellos con trazado anormal se repitió la exploración a las 72 horas registrándose el trazado más patológico.

### Determinación de prostaglandinas

La cuantificación de prostanoides se realizó mediante radioinmunoanálisis. Las determinaciones de cada PG y TX B2 se realizaron por duplicado, utilizándose antisueros específicos suministrados por el Instituto Pasteur (Paris-Francia) para el caso de la PG E2. Los niveles de 6-ceto-PG 1 alfa, TX B2 y PG F2 alfa se determinaron mediante el uso de kits comercializados (Amersham, Buckinghamshire, U.K.) según las normas del distribuidor. La concentración

de prostanoides se cuantificó en pg/mL. El "recovery" se determinó previamente, utilizando LCR con concentraciones conocidas de los eicosanoides utilizados y fue superior en todos los casos superior al 80%.

### *Análisis estadístico*

Las pruebas estadísticas utilizadas han sido: T, student, análisis de la varianza, test de Kruskal-Wallis, Scheffé para comparaciones individuales y el test de correlación lineal. Se aceptó como significativo un valor de "p" <0,05.

## RESULTADOS

No existieron diferencias significativas intergrupos en la edad gestacional, peso al nacimiento, horas de vida en el momento de la extracción, tensión arterial sistólica, diastólica y media; glucemia, pO<sub>2</sub> y pCO<sub>2</sub> y resultados del análisis citobioquímico del LCR.

Los resultados obtenidos expresados como media y desviación estándar de las concentraciones de prostaglandinas y de TX B<sub>2</sub> se reflejan en la tabla III. La concentración 6-ceto-PGF<sub>1</sub>-alfa, PGF<sub>2</sub>-alfa y TXB<sub>2</sub> en LCR se incrementó de forma significativa en función de la presencia o no de asfixia y en relación directa con la presencia y gravedad de disfunción neurológica.

El perfil de prostanoides fue también distinto en los grupos control, sin EHI y con EHI leve (6-ceto-PGF<sub>1</sub>-alfa > PGF<sub>2</sub>-alfa > TXB<sub>2</sub> > PGE<sub>2</sub>) al observado en el grupo con disfunción neurológica más severa (TXB<sub>2</sub> > OGF<sub>2</sub>-alfa > 6-ceto-PGF<sub>1</sub>-alfa > PGE<sub>2</sub>).

## DISCUSIÓN

Desde que en 1967, Karim y cols. identificaran prostaglandinas en sangre del cordón umbilical, se ha demostrado su importancia en la regulación de distintos procesos hemodinámicos del feto y neonato. En el sistema nervioso central los prostanoides forman parte de los complejos mecanismos de regu-

Tabla III.—Resultados

| Grupo (n)         | 6-ceto-PG    | TXB <sub>2</sub> | PGE <sub>2</sub> | PGF <sub>2</sub> |
|-------------------|--------------|------------------|------------------|------------------|
| Control (10)      | 80.55±12.56  | 28.12±10.6       | 8.10±4.32        | 58.70±10.12      |
| Sin EHI (10)      | 240.95±28.12 | 50.84±16.4       | 16.80±8.54       | 68.73±21.6       |
| EHI leve (12)     | 183.65±30.1  | 80.65±12.64      | 22.12±6.54       | 102.85±24.2      |
| EHI mod-grave (8) | 140.55±25.12 | 178.14±20.5      | 18.55±5.10       | 138.55±26.12     |

lación del flujo sanguíneo cerebral (FSC) y actúan como moduladores de distintas funciones cerebrales. La evidencia acumulada señala que los prostanooides participan en los mecanismos de adaptación de la microcirculación del cerebro fetal y neonatal durante la asfixia, la hipotensión y la ventilación mecánica.

Según nuestro conocimiento, el presente trabajo es el primero que investiga la relación entre la concentración de prostanooides en LCR y la EHI en el neonato humano. Wescott y cols. analizaron la concentración de prostanooides en LCR ventricular de niños con lesiones cerebrales agudas y con enfermedades neurológicas no progresivas. En ambos grupos los metabolitos mayoritarios fueron el TXB2 y la 6-ceto-PGF1 alfa detectándose concentraciones mínimas de PGE2 y PGD2. En pretérminos con hidrocefalia posthemorrágica, White analiza los niveles de eicosanoides en LCR ventricular observando que en aquellos que precisaron válvula de derivación el TXB2 y los leucotrienos C4 y D4 fueron los metabolitos mayoritarios. Mirro y cols. investigan la concentración de TXB2 y PGF2 alfa en RN con asfixia perinatal y los compara con los resultados obtenidos en LCR lumbar de doce RN con sospecha de sepsis, detectándose concentraciones mesurables de los dos prostanooides en 5 de los 11 neonatos asfícticos y sólo en 1 de los 12 neonatos sépticos. En nuestro país, Villamañán y cols. no encuentran diferencias significativas en la concentración liquoral de PGE2 y PGF2-alfa entre neonatos sanos y asfícticos.

Aunque la muestra analizada es pequeña estos resultados preliminares sugieren que la asfixia perinatal activa la síntesis de los metabolitos del ácido araquidónico por la vía ciclooxigenasa y que la concentración en LCR de TXB2 6-ceto-PGFI alfa y PGF2 alfa guarda relación con la gravedad de la EHIN, si bien sólo el incremento de TXB2 alcanzó significancia estadística. Estos resultados son concordantes con los obtenidos en algunos modelos experimentales. Bertazzo y cols. demuestran que tras 30 minutos de hipoxia la concentración de 6-ceto-PGF1-alfa y TXB2 en cortex cerebral de ratas no se modifica, sin embargo, durante la reoxigenación se incrementarían de forma significativa la concentración de TXB2 y la relación TXB2 6-ceto-PGF1 alfa. Patel y cols. también en ratas demuestran que la reperfusión después de un episodio de hipotensión sistémica incrementa la concentración de TXB2 y la relación TXB2 6-ceto-PGF1 alfa y que estos incrementos son proporcionales a la duración de la isquemia. Goldin y cols. investigan los efectos de cortos períodos de isquemia sobre la concentración de prostanooides en tejido placentario y cerebro de fetos de conejo, demostrando incrementos significativos de TXB2 y de la relación TXB2 6-ceto-PGF1 alfa. Shohami reporta una buena correlación entre el incremento de la concentración de TXB2 y de la relación TXB2 6-ceto-PGF 1 alfa y la disfunción neurológica en conejos sometidos a isquemia medular.

Durante la hipoxia-isquemia cerebral y en la fase de reoxigenación-reperusión tienen lugar modificaciones del metabolismo celular que pueden explicar estos resultados. En primer lugar, cuando la oferta de sustrato es alta se incrementa la síntesis de TXB2 mientras que en condiciones normales se sintetiza mayoritariamente prostaciclina. A diferencia del déficit de ATP y de la caída del pH neuronal, cuyas curvas tienen forma de meseta, la concentración intracelular de ácido araquidónico sigue incrementándose incluso 30 minutos después del inicio de la hipoxia-isquemia. Es posible por lo tanto, que la mayor concentración de TXB2 en el grupo con EHI más severa sea efecto de un insulto hipóxico-isquémico más prolongado.

Además el perfil obtenido en los grupos control, sin encefalopatía y con encefalopatía leve fue cualitativamente idéntico: el metabolito mayoritario fue la 6-ceto-PGF1 alfa seguida de la pGF2 alfa y el TXB2 con concentraciones mínimas de PGE2. Por el contrario en el grupo con EHI moderada-grave el metabolito cuantitativamente más importante fue el TXB2. En estos neonatos es posible que además de aumentar la actividad de la tromboxan-sintetasa este comprometida la síntesis de PGI2. Diferentes mecanismos pueden explicar esta hipótesis. La prostaciclín-sintetasa es inhibida por los radicales libres oxigénicos y los leucotrienos. Los hidroperóxidos producidos en la vía lipoxigenasa del metabolismo del ácido araquidónicos son también potentes y específicos inhibidores de la prostaciclín-sintetasa. El predominio del TXB2 -potente vasoconstrictor y activador de la agregación plaquetaria- sobre los prostanoïdes con acción vasodilatadora en la microcirculación cerebral del RN (PGI2, PGF2 alfa y PGE2) incremento las resistencias vasculares disminuyendo el FSC. Esta "isquemia secundaria" comprometería la vitalidad de estructuras cerebrales previamente lesionadas. Recientemente Van Bel y cols. utilizando la espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIRS) demuestran que en los neonatos asfícticos el FSC desciende durante las primeras doce horas de vida lo que parece confirmar la existencia del "Sd. isquemia-reperusión" en el céfalo del neonato humano.

Aunque el número de pacientes incluidos en el estudio es demasiado pequeño para extraer conclusiones definitivas, los resultados preliminares parecen indicar que la asfíxia perinatal modifica la síntesis cerebral de eicosanoides activándose la formación de TXB2. Por lo tanto, puede hipotetizarse que la mayor pérdida neuronal de los neonatos con formas severas de EHI es debida a la combinación de los efectos de la hipoxia-isquemia y de reacciones bioquímicas que se activan o persisten durante la reoxigenación-reperusión, una de las cuales es la activación del metabolismo del ácido araquidónico. El desequilibrio entre los eicosanoides vasodilatadores y los vasoconstrictores puede reducir el FSC con progresión de la muerte neuronal después de la asfíxia. La confirmación de los resultados en un número mayor de pacientes y con estudio simultáneo del FSC puede servir de base para la elaboración de

ensayos clínicos que tengan como objetivo evitar farmacológicamente el desequilibrio o restaurarlo.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) ESQUE, M. T., BADÍA, J., CLOSA, R. et al.: "Estudi multicéntric sobre la encefalopatía hipòxica-isquémica neonatal". *But Soc Cat Pediatr* (1988), **48**:169-229.
- (2) SECCIÓN NEONATOLOGÍA A. E. P.: "Mortalidad neonatal 1990". *An Esp Pediatr* (1992), **37**:520-524.
- (3) EDITORIAL: "Cerebral palsy, intrapartum care and shoot in the foot". *Lancet* (1989), 1251-1252.
- (4) AMIEL-TISON, C., ELLISON, P.: "Birth asphyxia in the fullterm newborn; early assessment and outcome". *Dev Med Child Neurol* (1986), **28**:671-682.
- (5) DREYFUS-BRISAC, C., MONOD, M.: "The electroencephalogram of fullterm newborns and premature infants". *Electroencephal Clin Neurophysiol* (1975). Ed. Elsevir. Amsterdam. Volumen 6.
- (6) KARIN, M. S. N.: "The identification of prostaglandins in human umbilical cord". *Br J Pharmacol* (1967), **29**:230-237.
- (7) LEFFER, C. W., BUSIJA, D. W.: "Arachidonic acid Metabolites and perinatal Cerebral Hemodynamics". *Semin Perinatol* (1987), **11**:31-42.
- (8) LESLIE, J. B., WATKINS D.: "Eicosanoid in the Central Nervous System". *J Neurosurg* (1985), **63**:659-668.
- (9) SHIMIZU, T., WOLFE, L. S.: "Arachidonic Acid Cascade and Signal Transduction". *J Neurochem* (1990), **55**:1-15.
- (10) POURCRYOUS, M., LEFFER, C. H., BUSIJA, D.: "Postasphyxial Increases in Prostanoids Cerebrospinal Fluid in Piglets". *Pediatr Res* (1988), **24**:229-232.
- (11) MENT, L. R., STEWART, W. B., DUNCAN, C. C.: "Beagle puppy model of perinatal cerebral infarction: Acute changes in regional cerebral prostaglandins during hemorrhagic hypotension". *J Neurosurg* (1985), **63**:899-904.
- (12) LEFFLER, C. W., BUSIJA, D. W., BEASLEY, D. G., FLETCHER, A. M.: "Maintenance of Cerebral Circulation during Hemorrhagic Hypotension in Newborn Pigs: role of prostanoids". *Circ Res* (1986), **59**:562.
- (13) LEFFLER, C. W., BUSIJA, D. W.: "Prostanoid and pial arteriolar diameter in hypotensive newborn pigs". *Am J Physiol* (1987), **252**:H687-H691.
- (14) MIRRO, R., ARMSTEAD, W., BUSIJA, D. W., GREEN, R., LEFFLER, C. W.: "Increased ventilatory pressure increases cortical subarachnoid cerebrospinal fluid prostanoids in newborn pigs". *Pediatr Res* (1987), **22**:647.
- (15) WESCOTT, J. Y., MURHY, R.: "Eicosanoids in human cerebrospinal fluid after severe brain injury". *Prostaglandins* (1987), **34**:877-888.
- (16) WHITE, R. P., LEFFER, C. W., BADA, H. S.: "Eicosanoids levels in cerebrospinal fluid of premature infants with posthemorrhagic hydrocephalus". *Am J Med Sci* (1990), **299**: 230-235.
- (17) MIRRO, R., ARMSTEAD, W. M., BEASLEY, D. G., LEFFLER, C. W.: "Lumbar CSF eicosanoids in neonates". *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* (1989), **36**:77-79.
- (18) VILLAMAÑÁN, I., ASENSIO, D., UBIERNA, D., ÁLVAREZ GUIASOLA, F. J., BURÓN, E.: "Niveles en líquido cefalorraquídeo de PGE<sub>2</sub> y PGF<sub>2α</sub> en recién nacidos con asfixia perinatal". Libro de abstracts. XIII Reunión Nacional de Medicina Perinatal. Tenerife. Octubre 1991, 59.