

## MESA REDONDA: «CRONOBIOLOGIA APLICADA EN PEDIATRIA»

### Bases conceptuales de la cronobiología y aplicaciones clínicas

J. ARDURA, M. A. REVILLA\*, J. M. ANDRÉS, J. ALDANA e I. VILLAMAÑAN

#### INTRODUCCIÓN

En el vértigo de renovación de los conocimientos médicos que vivimos, una parte corresponde a novedades intrínsecas. Un porcentaje a rectificaciones de conceptos erróneamente aceptados como válidos previamente. Otro aspecto concierne a la recuperación de ideas, enfoques y planteamientos, que afloraron en un momento histórico sin que tuvieran trascendencia general; y años después, se acreditan con firmeza. Como si tales novedades o descubrimientos se anticiparan a su tiempo, a las circunstancias de asimilación y utilización de la comunidad médica. Este es el caso de la Cronobiología.

La Cronobiología aparece como cuerpo de doctrina sólida con LAYCOCK y SMITH entre 1812 y 1874 (1, 2); pero no pudo desarrollarse por falta de tecnología. En los últimos 40 años, ha crecido de forma paralela a la electrónica y la informática. Vamos a presentar los aspectos conceptuales, la metodología requerida, las aplicaciones conocidas y potenciales de los ritmos biológicos o biorritmos (BR) en Medicina y particularmente en Pediatría.

Aunque ya existen Sociedades y publicaciones periódicas específicas, aun son reducidos los grupos de investigación en Es-

paña. En esta oportunidad vamos a mostrar los resultados del trabajo que esta línea de investigación ha producido durante los últimos 6 años en los Laboratorios de Cronobiología Pediátrica de las Universidades de Valladolid y Granada.

#### INTERÉS Y APLICACIONES

En palabras de HALBERG (3), los biorritmos se demuestran en las funciones biológicas y en los procesos funcionales del organismo; por lo que pueden tener implicaciones profundas en la práctica médica. La dimensión *tiempo*, incide en el diagnóstico, la terapéutica y la prevención de la enfermedad.

*Aplicaciones en fisiología.* La temperatura corporal oscila a lo largo del día, y en la práctica se mide su cuantía en tiempos que tradicionalmente se consideran indicativos de su zénit. La frecuencia cardíaca tiene variabilidad, influida por el sueño (REM), la ingesta, edad, ejercicio. La frecuencia respiratoria oscila con influencias similares (4). La presión arterial muestra enormes discordancias entre la medición única y aislada de la consulta y la determinada de forma continua ambulatoria por técnica de Holter.

*Aplicaciones en patología.* Si las funciones fisiológicas tienen ritmo y la patología expresa la perturbación funcional fisiológica, en patología han de estar implicadas alteraciones de los BR.

Se conocen numerosos procesos con variabilidad circadiana. Los ataques nocturnos de asma. La prevalencia de infarto de miocardio a las 9 de la mañana triplica la de las 11 de la noche. La trombosis cerebral tiene mayor ocurrencia matinal, mientras que la hemorragia es vespertina. El herpes zona incrementa las algias a mediodía, la angina de Prinzmetal de madrugada, la artritis reumatoide muestra la rigidez matutina, la rinitis polínica cursa con mayor obstrucción matinal (5, 6).

Otros procesos se ajustan a un ciclo semanal o circaseptano, y su descripción clínica clásica incorpora el calificativo, sin que hubiéramos reparado en tal hecho. Fiebre periódica, peritonitis periódica. La púrpura de Schönlein-Henoch muestra esa variabilidad, y el rechazo en el trasplante renal se produce con regularidad semanal (3, 7).

También son clásicas las enfermedades que se exacerban o presentan coincidiendo con ciclos estacionales. La depresión endógena y el úlcus duodenal, los suicidios son significativamente más frecuentes en las épocas de calor, el infarto de miocardio incide más con los cambios meteorológicos, mientras que el seminoma testicular se manifiesta con mayor frecuencia en invierno (8).

*Aplicaciones en el diagnóstico.* Cuando se miden concentraciones o niveles sanguíneos de productos biológicos con fines diagnósticos, se acepta como un hecho establecido, que los valores son constantes (criterio homeostático) y no lo son, precisamente son variables.

Las referencias de normalidad son valores medios obtenidos en un tiempo con-

creto del día; y sin embargo, se toman como referencia para las muestras obtenidas en cualquier otro momento del día en que la variabilidad puede cambiar el rango de normalidad. Numerosas pruebas funcionales están protocolizadas en horas de la actividad médica matinal; cuando la mayor sensibilidad, que permite detectar menores diferencias es vespertina. Valgan como ejemplos las pruebas de reactividad alérgica cutánea, o la estimulación de GH (5, 9).

*Aplicaciones en terapéutica.* En la terapéutica el fundamento estriba en la variabilidad funcional en el tiempo de órganos y sistemas. Si la actividad y la sensibilidad de células, tejidos y órganos va a ser diferente en las diferentes partes del día, será necesario administrar los fármacos teniendo en cuenta esos aspectos.

Es decir, hay momentos para generar un máximo efecto terapéutico y otros en que se provoca una mínima reacción adversa. En definitiva, la variable susceptibilidad de órganos y sistemas, hace recomendable tomar en cuenta el *Tiempo biológico* del organismo, para conseguir máximos efectos con mínimo riesgo (10, 11). La cronoterapéutica busca combinar ambas situaciones, administrando fármacos con criterio *Temporal* (8, 12, 13).

Tomando en consideración los BR, se consigue un manejo más funcional de los fármacos. Así, la administración a última hora del día, de hipotensores con pico máximo en la madrugada, controlan mejor la elevación tensional del despertar, previniendo accidentes cerebrovasculares e infartos. Y la pauta vespertina de reofilinas retardadas, actúan con mayor eficacia por conseguir su pico de concentración máxima al final de la noche, cuando se produce la mayor resistencia en la vía respiratoria. El Cisplatino produce menor reacción adversa, cuando la actividad renal

es más intensa, coincidiendo con la excreción máximo de potasio durante el día (3, 13, 15, 16).

Además, existe la posibilidad de obtener *Marcadores de ritmo* para diversas terapéuticas, como es el caso de la *temperatura* en el cáncer oral. Se ha demostrado que la máxima actividad tumoral y máxima sensibilidad terapéutica, coincidan con la temperatura local máxima. Aplicando un tratamiento *temporizado* con la temperatura, se consigue una regresión más rápida que con tratamiento convencional aleatorio a lo largo del día. Pero además, el seguimiento de dos años, demostró que se mantenían libres de la enfermedad el 60 % en el primer caso, frente al 35 % en el segundo (3). El mensaje cronobiológico en terapéutica estriba, en que además de *como tratar*, debe tenerse en cuenta *cundo tratar*.

*Aplicaciones en prevención.* Existen datos demostrativos obtenidos en Japón, Italia, USA, que prosiguen actualmente con participación española, recogiendo grandes masas de población, para obtener diagnóstico predictivo de riesgo de enfermedad hipertensiva.

El análisis ritmométrico de las series temporales de presión arterial, permite diferenciar a través de los cambios en el parámetro Amplitud, a los neonatos en riesgo de padecer hipertensión en la vida adulta (3, 15, 16). La experiencia inicial detectó cambios significativos en la Amplitud de la TA de neonatos, en los que se demostró la existencia familiar de enfermedad hipertensiva. No se evidenciaron los mismos cambios en la Amplitud, en los recién nacidos hijos de padres normotensos.

La mastopatía fibroquística es un proceso con posibilidades de degeneración cancerosa. Se han demostrado cambios diarios y estacionarios en los niveles de

prolactina, que son predictivos del riesgo degenerativo. En los casos de riesgo, la prolactina tiene menor oscilación rítmica diaria (3). Cuando se analiza la temperatura local en el pecho y se efectúa un análisis ritmométrico de la misma, se demuestra que en caso de riesgo, se pierde la oscilación diaria, semanal y estacional.

*Aplicaciones al pronóstico.* Es conocida la susceptibilidad a las agresiones, con carácter cronológico o temporal, ajustadas a fases circadianas. De forma que se han elaborado mapas circadianos de menor resistencia en cuanto a lugar y hora (8, 12, 17).

En clínica humana, se conoce una curva diaria de mortalidad, con dos picos, uno al comienzo de la noche y otro al final de la misma. Si bien la acrofase se sitúa en torno a las 6:00. Esta acrofase es diferente, según que la enfermedades sean médicas o quirúrgicas. Asimismo hay variaciones en función de la edad. También hay acrofases ajustadas a la causa de la enfermedad, es diferente para las enfermedades infecciosas, que para la muerte súbita (8, 12, 17).

*En resumen,* algunos de los hechos revisados son conocidos de antiguo; pero pueden constituir novedad por su enfoque relacionado con la dimensión tiempo. En la medicina actual los biorritmos representan:

— Una Medicina enfocada al individuo, situado en la globalidad natural y ambiental.

— Introduce al saber y hacer profesional, la variabilidad temporal. Además de la hora del reloj, debemos tener presente la hora biológica.

— El análisis de la variabilidad de las variables, puede predecir el estado de salud.

— El método cronobiológico define la salud al cuantificar el rango fisiológico de

las observaciones (homeostasis) de manera dinámica, estableciendo luego patrones de variabilidad temporal como referencia.

— Es una aproximación positiva a la definición de la salud, frente a la negativa habitual, de «ausencia de enfermedad».

#### ASPECTOS CONCEPTUALES

Actualmente, seguimos tomando las estructuras conceptuales del pensamiento anatomoclínico, fisiopatológico y etiopatogénico, como referencia diaria en nuestro bagaje y actuación. Desde el punto de vista de la Cronobiología y los ritmos biológicos, ese enfoque no tiene suficiente fundamento fisiológico.

La base conceptual y operativa de la Cronobiología, se puede reestructurar sobre dos hechos, uno funcional, otro de cuantificación.

1. *Funcional*: Además de la función de la célula, el tejido, o el órgano en el espacio (cuerpo), se incorpora el concepto de la función en el tiempo (13).

2. *Medición*: Las «observaciones» de diferentes funciones y sus parámetros, han sido clásicamente expresados en una dimensión, según escalas ajustadas a sus características (gramos, centímetros, volumen, concentración). La cronobiología, incorpora el concepto de dos dimensiones. Una es la recién mencionada, la otra es el tiempo. Es decir, la referencia de un valor según su escala y además referido a la escala temporal.

El término cronobiología contiene las etimologías de su definición (16): *Crono-bio-logía*, que se traducen como sigue:

a) Ciencia (*logía*) que considera la estructura temporal (*crono*) de la vida (*bio*); es decir, la estructura del *tiempo vital*.

Si *ritmo* es un hecho repetido en un período de tiempo, *biorritmo* es un cambio funcional que se repite o recurre con un período de tiempo. La expresión fisiológica de la vida, se basa en la sucesión alternante de actividad/reposo conformando un ciclo, La repetición de tal ciclo, constituye un biorritmo.

La ritmicidad, el carácter cíclico de la conducta, es una característica común a todos los organismos vivos. Como ejemplos más próximos tenemos el sueño/vigilia, la ingesta, la reproducción (3, 19).

Es un proceso de adaptación de los organismos, a los cambios en los ciclos ambientales, que en el curso de la evolución, ha resultado en la generación de un sello o impronta definitivo en su dotación genética. Confiando así carácter endógeno y propio, que les permite el control de su propia variabilidad, al margen de la influencia de circunstancias ambientales. Las alternancias ambientales (*zeitgebers*) sincronizan; pero no conducen, no dirigen los ritmos intrínsecos.

El concepto de homeostasis, como hecho funcional de regulación y mantenimiento del equilibrio del medio interno, se complementa con el de biorritmo, como regulación de las relaciones del organismo con el medio externo, para facilitar su integración en él.

*Tipos de biorritmos*. El análisis de una serie de datos en el tiempo, bajo el concepto de señal o serie temporal, no concluye con el hecho de señalar la existencia o no de variabilidad. Sino que implica su interpretación y la valoración de sus características (3). Los parámetros que caracterizan un ritmo se concretan en (Figura 1):

— Periodo, tiempo requerido para que una oscilación describa un ciclo completo.

## ANÁLISIS DE COSINOR

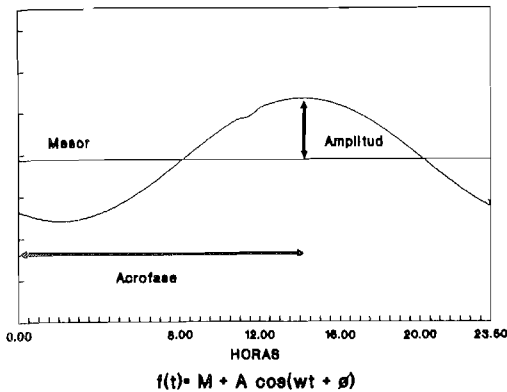


FIG. 1. Esquema representativo de la curva coseno y los parámetros del método cosinor

— Frecuencia, es inverso del período. Expresa el número de ciclos o períodos en la unidad de tiempo.

— Acrofase, tiempo en que se observa el valor máximo de una variable.

— Amplitud, mitad de la altura que separa un valor máximo del mínimo a lo largo de todo un ciclo.

— MESOR (Midline Estimating Statistic of Rhythm), valor promedio en torno al cual oscilan todos los valores medidos.

— Fase, punto del ciclo al que corresponde un valor observado.

— Ritmo de curso libre, expresa el ritmo endógeno, cuando se ha suprimido toda influencia ambiental.

En función del período se conocen ritmos: *Ultradianos*, *Circadianos* e *Infradianos*. En función de los factores determinantes: *Endógenos* y *exógenos*. Ritmos ultradianos son los que tienen ciclos con período inferior a 20 horas. Circadianos, cuando tiene una duración entre 20 y 28 horas, es decir, alrededor del día (circa = alrededor; diem = día). Infradianos cuando el período es superior a 28 horas. Estos a su vez pueden ser: semanales o cir-

caseptanos; mensuales o circatrigintanos; estacionales o anuales.

Ritmos endógenos cuando están originados por una oscilación autoexcitable de centros propios del individuo. Exógeno cuando son determinados por fenómenos externos, como la alternancia de luz con la variación día-noche (2, 3, 21).

## METODOLOGÍA

La disponibilidad de un número de observaciones o valores de una variable respecto a un período de tiempo, son la condición básica para proceder a un análisis de sus biorritmos. Estas observaciones pueden ser directas o personales, es decir, manuales; o bien por métodos automáticos, a través de monitorizaciones electrónicas. Y no sólo para variables biofísicas, sino también para las bioquímicas (22).

En el mercado existe una gran variedad de métodos, tanto fijos o estáticos, con máquinas que obligan a la estancia del paciente en el hospital; como dinámicos o ambulatorios. El ideal es el sistema que propicia la disponibilidad directa de los datos en un soporte informático, para proceder al análisis con el menor error y esfuerzo, como es el desarrollo que nuestro grupo ha conseguido sobre un monitor comercial, lo que nos permite obtener de cada variable una observación por minuto, es decir, hasta 1440 datos por variable y día (Figuras 2 y 3). En otro caso deberán ser dispuestos en ficheros de datos con estructura adaptada, para su manejo y análisis por medio de ordenadores.

En segundo término se procede al análisis ritmométrico macroscópico, que consiste en la representación gráfica de la serie temporal de datos, para observar las variaciones. Obtenemos así cronogramas o periodogramas, que pueden ser indicativos

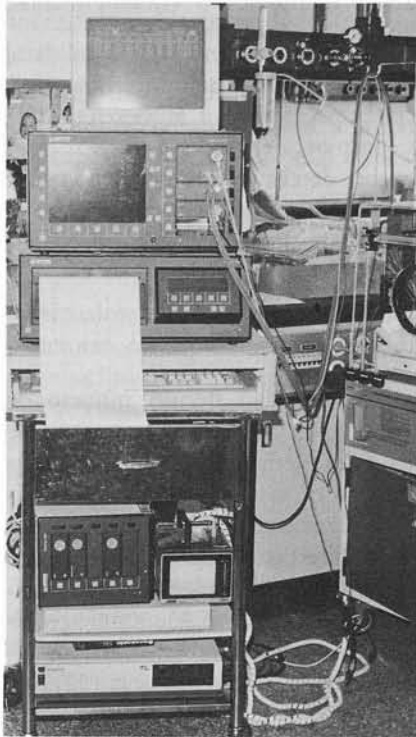
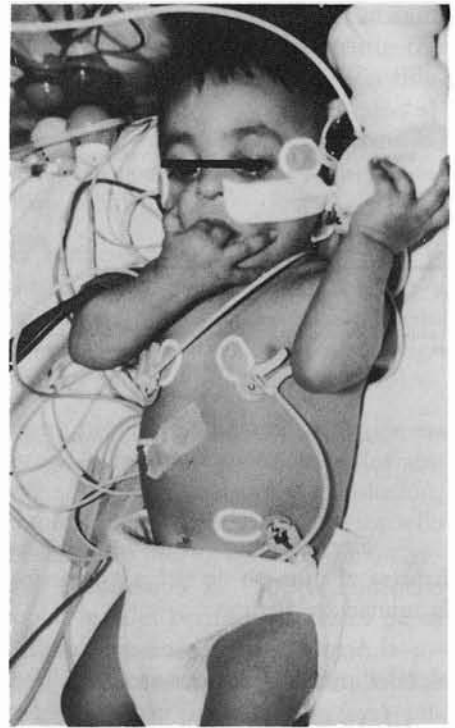


FIG. 2 a)



b)

Inicio sesión : 13:34      Duración : 1440 m.      Intervalo : 1 m  
 Hora REAL : 13:35      Próxima conexión SUPERMON : 13:36

HORA	F.C.	F.R.	T1	T2	T.SIS	T.DIA	T.MED	SATO	01	02
13:34	80.0	35.9	32.2	73.0	77.0	59.0	66.0	0.0	0.0	0.0
13:35	158.0	35.9	32.3	57.0	77.0	59.0	66.0	0.0	0.0	0.0
13:36	153.0	35.9	32.3	69.0	77.0	59.0	66.0	0.0	0.0	0.0
13:37	154.0	35.9	32.4	61.0	77.0	59.0	66.0	0.0	0.0	0.0
13:38	153.0	35.9	32.4	58.0	77.0	59.0	66.0	0.0	0.0	0.0
13:39	121.0	35.9	32.4	58.0	77.0	59.0	66.0	0.0	0.0	0.0

FIG. 2. Métodos de registro de datos de las variables. a) Columna de monitorización estática. De arriba abajo: monitor de ordenador, polígrafo, registrador gráfico multicanal, teclado de ordenador, cajón de utillaje, caja de expansión de módulos y monitor de videograbación, unidad central de ordenador, videomagnetooscopio. b) obtención de variables por método incruento a través de sensores y electrodos superficiales.

E-OCULO-C :  E-MIO-C :  SUPINO :  VIGILIA :   
 LLANTO :  MOVIMIENTOS :  CHUPETEO :  TONA :  FASE LUZ :   
 Datos variables proxima toma      ESC Finalizar

FIG. 3

FIG. 3. Formato de registro y depósito directo en base de datos a intervalos de 1 minuto. Posibilidad de anotaciones de factores ambientales al pie de pantalla de forma interactiva.

de variabilidad con o sin ritmo perceptible a nivel visual (Figura 4). Sin embargo no podrá hacerse una afirmación con base estadística.

Analizar datos basados exclusivamente en parámetros como media, máximo, mínimo, es insuficiente debido a lo incierto de valores aislados. Las mediciones diná-

micas son calibradores más sensibles que las medidas de dispersión y localización. La ritmometría permite la caracterización de un ritmo y el análisis estadístico de su significado. REVILLA (23) ha llevado a cabo en nuestro grupo, el desarrollo de un programa informático (Rythmometric), que hace posible un análisis completo, incluyendo análisis espectral (transformada rápida de Fourier), para determinar los periodos más significativos en la serie de datos (Figura 5).

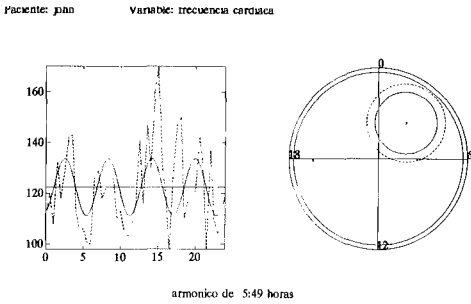


FIG. 4. La imagen de la izquierda muestra en puntillado la distribución de datos de la variable respecto al tiempo (cronograma), con superposición de la curva coseno, que muestra oscilación con período armónico de 5:49 horas (ultradiano). A la derecha representación de datos en formato de cosinor polar, con circunferencia representativa del ciclo de 24 horas. La forma de elipse muestra la distribución de los datos, con sus intervalos de confianza. Por no contener el centro, el ritmo resulta significativo

Para confirmar con métodos más objetivos la aparente ritmicidad, o descubrir la existencia de ritmos no perceptibles, se emplean distintos procedimientos matemáticos que precisan ser realizados mediante ordenadores, porque implican un número muy elevado de cálculos; razón por la que a este análisis se le denomina microscópico, en parangón con los clásicos estudios morfológicos anatómicos e histológicos.

Cuando el ritmo puede expresarse por una función matemática, próxima a la sinusoidal o función coseno, el análisis es factible a través de la representación vectorial de los parámetros amplitud y acrofase, mediante el test de cosinor (de cosenovector) (24). Se trata de un procedimiento de mínimos cuadrados, que determina la curva coseno que mejor se ajusta al patrón de datos, o valores observados en un período de tiempo. Cuando la amplitud se diferencia de cero de forma significativa,

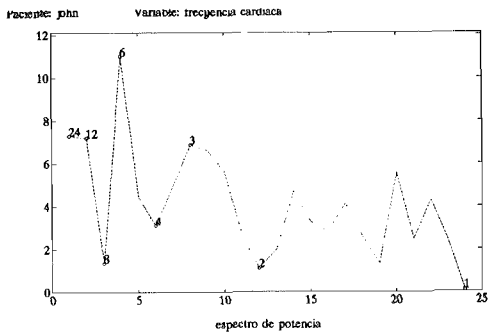


FIG. 5. Análisis espectral de una serie de observaciones temporales de frecuencia cardiaca. Los vértices representan los períodos armónicos más representativos.

va, se concluye que existe ritmo. Para el análisis son necesarios al menos cuatro puntos de observación diferentes, para el ajuste de la curva; y el intervalo entre ellos, aunque no fijo, debe ser razonablemente uniforme a lo largo del ciclo. (Fig. 6).

El análisis de cosinor es un modelo para el cálculo de series temporales que permite: a) Posibilidad de tratar con datos no equiespaciados; b) caracterización de ritmos, tanto de un individuo, como de una población o grupo; c) chequeo de la significación estadística de los ritmos y sus diferencias.

# ANALISIS ESPECTRAL

Har	Per.	Mesor	Amp.	Z-test	Acro.	%Rhyt	Varian	Hint
1.-	24:00	27.25	4.61	0.000	11:30	32.05	1081	**
2.-	12:00	27.25	2.63	0.084	0:15	10.44	1425	
3.-	08:00	27.25	1.59	0.416	3:38	3.83	1530	
4.-	06:00	27.25	0.50	0.919	2:02	0.37	1585	
5.-	04:48	27.25	0.67	0.857	0:58	0.68	1580	
6.-	04:00	27.25	1.58	0.422	1:40	3.76	1531	
7.-	03:26	27.25	1.96	0.260	2:57	5.82	1498	
8.-	03:00	27.25	1.83	0.310	2:29	5.08	1510	
9.-	02:40	27.25	0.70	0.845	2:04	0.75	1579	
10.-	02:24	27.25	0.72	0.840	0:07	0.77	1579	
11.-	02:11	27.25	1.35	0.535	1:30	2.75	1547	
12.-	02:00	27.25	0.98	0.720	0:34	1.45	1568	
13.-	17:18	28.34	5.04	0.000	11:51	37.65	992	**

FIG. 6. Ejemplo de tabla resultante del análisis ritmométrico espectral, con expresión de los períodos, MESOR, amplitud, Z test, acrofase, porcentaje de ritmo, varianza y grado de significación estadística (\*\* < 0,01). 13 es el mejor período.

Una vez observados y analizados los datos, se procede a la interpretación de los hallazgos en función de la hipótesis y objetivos de cada diseño. Algunas de las aplicaciones han sido referidas en el apartado de interés de esta exposición. El ám-

bito pediátrico ofrece una gran cantidad de incógnitas al respecto. En los últimos 6 años nuestro grupo en Valladolid, así como el de Granada, han hecho estudios al respecto, que serán motivo de exposición a continuación.

## BIBLIOGRAFIA

1. LAVIE, P.: *Two 19th-century chronobiologists: Thomas Laycock and Edward Smith*. Chronobiol Internat, 1992; 9: 83-96.
2. MINORS, D. S.; WATERHOUSE, J. M.: *Comment: Two 19th-century chronobiologists: Thomas Laycock and Edward Smith by P. Lavie*. Chronobiol Internat, 1992; 9: 97-99.
3. HALBERG, F.; BARNWELL, F.; HRUSHESKY, W.; LAKATUA, D.: *Chronobiology. A science in tune with the rhythms of life*. E. Bakkin Ed. Minneapolis, 1986.
4. CUGINI, P.; LATINI, M.; GIRELLI, I.; MECHELLI, A.; FELICI, L. W.; TUCCIARONE, L.: *Ritmi circadiani della pressione arteriosa, frequenza cardiaca, frequenza respiratoria e temperatura corporea in eta pediatrica*. Analisi cosinor dei lavori di Imperato e Landuci (1948-1949). Minerva Pediatr., 1986; 38: 537-543.
5. MESTRE, B.; TOMÁS, J.: *Ritmos biológicos. Servicios Científicos Roche*. P. Mallorca, 1976.
6. MOORE-EDDE, M. C.; CZEISLER, C. A.; RICHARDSON, G. S.: *Circadian timekeeping in health and disease*. Parr. 2. Clinical implications of circadian rhythmicity. New. Engl. J. Med., 1983; 309: 530-536.
7. HANSON, B. R.; HALBERG, F.; TUNA, N.; BOUCHARD, T. J.; LYKEN, D. T.; CORNELISSEN, G.; HESTON, L. L.: *Rhythmometry reveal here-*



- dability of circadian characteristics of heart rate of human twins reared apart.* *Cardiología*, 1984; 29: 267-282.
8. LOMBROSO, C. T.: *Neonatal polygraphy in full-term and premature infants: A review of normal and abnormal findings.* *J. Clin. Neurophysiol.*, 1985; 2: 105-155.
  9. BIXLER, E. O.; VELA-BRUNO, A.: *Normal sleep: Patterns and mechanisms.* *Semin Neurol*, 1987; 7: 227-235.
  10. CZERNICHOV, P.; WOLF, B.; FERMANIAN, J.; POMAREDE, R.; RAPAPORT, R.: *Twentyfour hour variations of thyroid hormones and thyrotropin concentrations on hypothyroid infants treated with L-T-thyroxine.* *Clin Endocrinol*, 1984; 21: 393-397.
  11. POPLAEK, D. G.; BALIS, F. M.; ZIMUL, S.: *The pharmacology of orally administered chemotherapy. A reappraisal.* *Cancer*, 1986; 58: 473-480.
  12. BUENO, M.: *Los biorritmos en pediatría.* *Rev. Esp. Pediatr.* 1984; 40: 1-10.
  13. UPDIKE, P. A.; ACCURSO, F. J.; JONES, R. H.: *Physiologic circadian rhythmicity in preterm infants.* *Nurs Res*, 1985; 34: 160-163.
  14. WIRTZ-JUSTICE, A.: *Light and dark as a drug.* *Progr. Drug. Res.* 1987; 31: 383-425.
  15. WOOD, J. H.; GARRETTSON, R. K.: *An explanation of circadian rhythm for theophylline and other drugs (letter).* *Lancet*, 1983; 2: 570.
  16. HALBERG, F.; TARQUINI, B.; MAINARDI, G.; CAGNONI, M.; PANERO, C.; SCARPELLI, P.; ROMANO, S.; MARZ, W.; SHINODA, M.: *Neonatal monitoring to asses risk for hypertension.* *Postgrad Med.* 1986; 79: 44-46.
  17. PATRICK, J.; CHALLIS, J.; NATALE, R.; RICHARDSON, B.: *Circadian rhythms in maternal plasma cortisol, estrone, estradiol and estriol at 34 o 35 weeks gestation.* *Am. J. Obstetr. Gynecol.*, 1979; 135: 791-798.
  18. GUILLEMINAULT, C.; SOUQUET, M.: *Sleep states and related pathology. In Advances in Perinatal Neurology.* Spectrum Pub. NY, 1979: 225-247.
  19. HALBERG, F.: *Chronobiology.* *Ann. Rev. Physiol.* 1969; 31: 675-725.
  20. SILVA, J. C.; VALBUENA, L.; VILLAR, A.; ARDURA, J.: *Maduración de los ritmos biológicos.* *Bol. Soc. Cast. Ast. Leon Pediatr.*, 1984; 25: 623-629.
  21. GRAU FONOLLOSA, C.: *Cronobiología del comportamiento.* En C. Ballus Ed., *Psicobiología. Interrelación de aspectos experimentales y clínicos.* Barcelona, 1983.
  22. ARDURA, J.; ANDRÉS, J.; ARAGÓN, M. P.; ALDANA, J.; BRETANA, M. L.; REVILLA, M. A.: *Estudio de prevalencia y desarrollo de biorritmos en período neonatal.* Prem. Ordesa 1990. Ordesa ed. Barcelona, 1991: 149-226.
  23. REVILLA, M. A.; ARDURA, J.: *A multiple platform software for biological rhythm analysis.* XXI Conf. Internat Soc. for Chronobiol. Quebec city, 1993; X: 3.
  24. NELSON, W.; TONG, Y. L.; LEE, J. K.; HALBERG, F.: *Methods for Cosinor-Rhythmometry.* *Chronobiologia*, 1979; 6: 305-323.

#### *Petición de Separatas:*

Prof. J. ARDURA  
 Facultad de Medicina. Pediatría  
 Avda. Ramón y Cajal, 5  
 47005 VALLADOLID