

**Universidad Nacional Autónoma de México**

**FACULTAD DE QUIMICA**



---

---

**VALOR PRONOSTICO DEL PERFIL DE FOSFOLIPIDOS  
TENSOACTIVOS EN LA MADUREZ PULMONAR FETAL**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A:

**Ma. de Lourdes Jiménez Perea**

**MEXICO, D. F.**

**1982**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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 esta 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 .

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| ANTECEDENTES -----              | 1  |
| JUSTIFICACION -----             | 3  |
| OBJETIVOS -----                 | 5  |
| CAPITULO I                      |    |
| GENERALIDADES SOBRE EL LIQUIDO  |    |
| AMNIOTICO -----                 | 6  |
| CAPITULO II                     |    |
| ASPECTOS FISIOLÓGICOS -----     | 14 |
| CAPITULO III                    |    |
| COMPOSICION QUIMICA-----        | 36 |
| CAPITULO IV                     |    |
| MADURACION PULMONAR FETAL ----- | 49 |
| CAPITULO V                      |    |
| MATERIAL Y METODO -----         | 76 |
| RESULTADOS -----                | 75 |
| DISCUSION .-----                | 81 |
| CONCLUSIONES -----              | 83 |
| APENDICE -----                  | 85 |
| INDICE DE FIGURAS -----         | 87 |
| BIBLIOGRAFIA -----              | 88 |

· ANTECEDENTES .

La mortalidad perinatal, siendo muy elevada, está condicionada en un alto porcentaje por el gran número de nacimientos que ocurren antes del término del embarazo, con -- productos de la gestación que no han completado un grado de maduración (desarrollo) de sus órganos que le permiten sobrevivir en buenas condiciones (1), Fig. 1.

El nacimiento de productos prematuros está en relación directa con el alto riesgo perinatal ya que en las embarazadas que se clasifican como tales, existen dos tipos de - problemas frecuentemente:

- 1.- El embarazo tiene que ser interrumpido en forma temprana porque pone en riesgo tanto a la madre como el feto.
- 2.- El embarazo tiene que prolongarse hasta lo más próximo - al término en los casos en que no signifique riesgo para la madre y/o el feto.

En ambos casos, es indispensable contar con método-- dos confiables para evaluar la maduración fetal, pues esto - permitirá tomar decisiones de manejo que ofrezcan mayor seguridad tanto al feto como a la madre, ya que la prematurez es tá directamente relacionada con aumento de la morbilidad del recién nacido y con la mortalidad neonatal. Fig. 2.

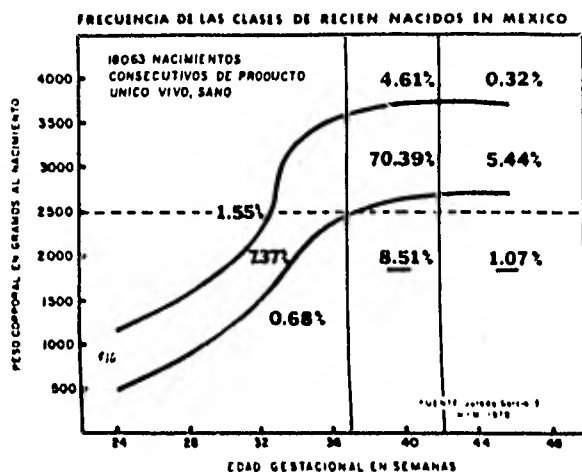
Uno de los problemas más importantes del recién nacido y causa frecuente de muerte o secuelas, es la presencia del Síndrome de Dificultad Respiratoria (SDR), originado por insuficiencia en la maduración pulmonar.

Se ha demostrado que el grado de maduración pulmonar está directamente relacionado con la cantidad y calidad de fosfolípidos pulmonares fetales, y en la actualidad se cuenta con variados métodos y técnicas de laboratorio que permiten conocer estos datos.

El método más aceptado a la fecha es la determinación de la relación lecitina/esfingomielina (L/E), en el líquido amniótico debido a que la cantidad de lecitina expresada con respecto a la cantidad de esfingomielina a través de la edad gestacional permite evaluar la madurez pulmonar fetal y predecir con un grado muy amplio de confiabilidad, las posibilidades del recién nacido de desarrollar el SDR, causa más frecuente de morbimortalidad que continúa siendo elevada a pesar de los notables avances que se han logrado en el manejo de esta patología.

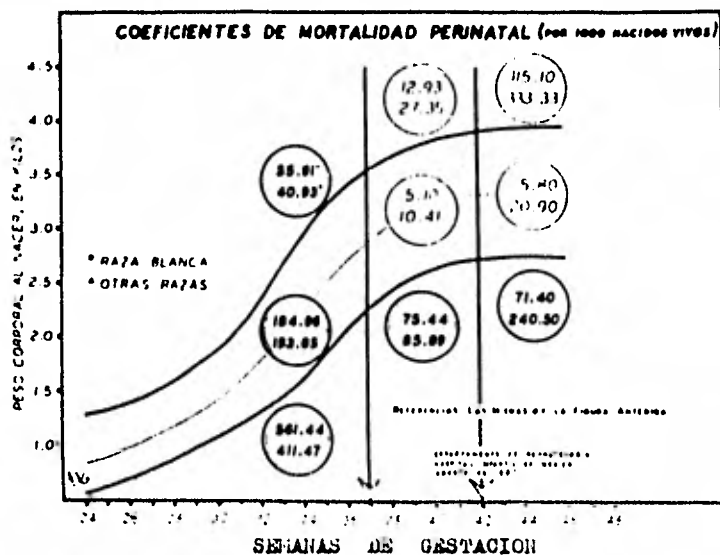
Aún se realizan estudios sobre la evolución posterior de los niños que presentan características de la población de bajo peso al nacimiento que tuvieron oportunidad de sobrevivencia y que pueden presentar secuelas neurológicas como: parálisis cerebral y otras alteraciones del Sistema Nervioso Central, y defectos visuales y auditivos; así como retardo en el aprendizaje y la inteligencia y desórdenes del comportamiento (2).

FIGURA 1



FRECUENCIA DE LAS CLASES DE RECIEN NACIDOS OBSERVADA EN UNA MUESTRA DE 18 063 NACIMIENTOS CONSECUTIVOS RECOLECTADA EN MEXICO, D.F.

FIGURA 2



COEFICIENTES DE MORTALIDAD PERINATAL POR CADA 1 000 NACIDOS VIVOS, SEGUN LA CLASE DE RECIEN NACIDO.

J U S T I F I C A C I O N .



La técnica para determinar la relación L/E en el líquido amniótico llevada a cabo por cromatografía en capa fina, es la descrita por Gluck y Kulovich en 1971 (3) y que posteriormente fué modificada por otros autores (4,5) para darle mayor confiabilidad.

Ya ha sido demostrada la utilidad clínica de este método por varios autores (4,6,7), los cuales señalan que valores superiores a 2.0 en la relación L/E indican madurez pulmonar fetal. Sin embargo, estudios posteriores (8), demostraron que el valor pronóstico de la relación L/E cuando ésta es menor de 2.8, sigue siendo dudoso, y que sólo valores superiores de esta cifra nos indican una alta probabilidad de madurez pulmonar fetal y bajo riesgo de desarrollar SDR.

La modificación introducida por Hallman (5) al desarrollar el sistema de cromatografía en capa fina bidimensional, que permite la identificación y cuantificación de otras fracciones componentes del sistema tensoactivo pulmonar y fundamentalmente la presencia del fosfatidil glicerol - considerado por muchos autores como el más importante de los fosfolípidos ya que su sola presencia indica un grado adecuado de maduración pulmonar fetal y más aún si se encuentra en proporciones elevadas con respecto al total de estas fracciones, condujeron a evaluar el grado de predictibilidad de todos fosfolípidos por separado.

La integración de cada uno de los componentes del

sistema tensoactivo pulmonar en un "Perfil de Fosfolípidos - Pulmonares", tanto en embarazos normales (9), como en embarazos complicados (10), permiten observar el comportamiento de los fosfolípidos a través de la edad gestacional.

Pero aún así, la construcción de este perfil no -- predice la presencia o ausencia del SDR, por lo cual creemos que puede ser un factor que llegue a inducir a errores de -- apreciación y por lo tanto de manejo de las embarazadas y el recién nacido.

OBJETIVOS .

- 1.- Comparar nuestros resultados con los obtenidos por la Dra. Kulovich en el método original y descartar posibles variaciones con respecto al mismo aplicado por nosotros.
- 2.- Demostrar que cuando se interpretan los resultados de los valores de fosfolípidos en correlación con semanas de gestación, la predictibilidad se da solo cuando se trata de embarazos normales con productos normales ya que la cantidad de fosfolípidos puede ser influenciada por múltiples factores que complican el embarazo ya sea aumentándolos o disminuyéndolos.
- 3.- Establecer las curvas de probabilidad de presentar SDR con los valores de cada uno de los componentes del perfil de fosfolípidos por separado.
- 4.- Estudiar un método diagnóstico que proporcione una mayor confiabilidad pronóstica respecto a la probabilidad de que un neonato desarrolle o no el SDR, independientemente de la edad gestacional y relacionando tan sólo con la capacidad de funcionamiento del Sistema Respiratorio. Para ello se propone el cálculo de dicha probabilidad a través de la utilización de los datos que se obtengan mediante el estudio de las correlaciones existentes entre los elementos del perfil de fosfolípidos de origen pulmonar fetal y los hallazgos clínicos de ausencia o presencia de SDR.

## C A P I T U L O I

### GENERALIDADES SOBRE EL LIQUIDO AMNIOTICO:

Función

Constituyentes Químicos del Líquido Amniótico:

- a) Bilirrubina
- b) Creatinina
- c) Citología Exfoliativa

Desarrollo Histórico de la Valoración de la Madurez Fetal.

Indicadores Clínicos.

## GENERALIDADES SOBRE EL LIQUIDO AMNIOTICO.

## FUNCION.

La función del líquido amniótico es la de brindar protección al feto, asegurarle una presión y temperatura --- constantes a lo largo del embarazo. Permite que el producto se mueva libremente evitando que choque con las paredes ma-- ternas. Durante el trabajo de parto el líquido amniótico re cibe toda la presión de las contracciones uterinas.

Es posible que su papel sea pobre en cuanto a po-- porcionar sustancias nutritivas al feto (11).

## CONSTITUYENTES QUIMICOS DEL LIQUIDO AMNIOTICO.

Al principio de la gestación, el volúmen del líqui-- do amniótico es pequeño y su composición sugiere la de un -- dializado de suero materno. Al avanzar el embarazo el volú-- men aumenta y cambia su composición. A medida que se obtie-- nen nuevos conocimientos respecto a la fisiología del líqui-- do amniótico se antoja concebible que algunas característi-- cas exponentes de cambios cuantitativos en una época determi-- nada durante el curso de la gestación podrían tener valor pa-- ra precisar la fecha de comienzo del embarazo de duración -- desconocida.

Cuando menos 4 constituyentes del líquido amnióti-- co: bilirrubina, creatinina, fosfolípidos y células de desca-- mación, guardan al parecer buena correlación con el comienzo de las semanas finales del embarazo (12).

BILIRRUBINA.- El análisis espectrofotométrico del líquido amniótico en embarazos con inmunización al factor Rh (12) revela una disminución de incremento de densidad óptica a 450 nm., a medida que progresa el embarazo en ausencia de eritroblastosis fetal o en casos leves de la misma.

Mandelbaum y cols. (13), observaron que en embarazos normales el pigmento de bilirrubina comienza a desaparecer del líquido amniótico cerca del término y que el incremento de densidad óptica a 450 nm., fué a menudo de 0.00 después de 36 semanas de gestación.

Se atribuye este cambio a una mejoría progresiva de las funciones del hígado fetal como aumento subsiguiente de su capacidad para conjugar la bilirrubina, así como a cambios del epitelio respiratorio fetal. Postularon estos autores que el contenido de bilirrubina del líquido amniótico -- constituye un reflejo de la edad fetal y que una lectura superior a 0.01 nm. sugiere una edad postmenstrual inferior a 25 semanas.

CREATININA.- Los primeros investigadores (14), demostraron que los compuestos nitrogenados orgánicos se encuentran en la sangre materna y fetal en concentraciones similares al término del embarazo, pero que la concentración en el líquido amniótico es netamente superior a la de la sangre. En el líquido amniótico la concentración de creatinina es de 2 a 3 veces superior a la encontrada en el suero materno normal.

Estas relaciones han sugerido que la cantidad de creatinina en el líquido amniótico podría ser un parámetro clínico útil como índice de madurez fetal. Pitkin y Zwirek (14) han indicado que la concentración de creatinina en el líquido amniótico constituye índice fidedigno de madurez fetal al comprobar que desde tres semanas antes del término el líquido del 95 % de los embarazos examinados contenía más de 2 % de creatinina.

CITOLOGIA EXFOLIATIVA DEL LIQUIDO AMNIOTICO.- Las células suspendidas en el líquido amniótico pueden teñirse para establecer su morfología e identificar lípidos. Cuando se tiñen con Sulfato de Azul de Nilo, el material lípido de la célula y el existente en torno a la misma toma el aspecto de gotitas de color rojo anaranjado. Se encuentran cuatro tipos de células: la parabasal, la célula intermedia que se tiñe de azul, una célula escamosa anucleada también azul y la célula anucleada que se tiñe de color naranja. Brosens y Gordon (15) observaron relaciones muy estrechas entre el número de células teñidas de naranja en el líquido amniótico y la edad gestacional del feto. Creen estos autores que la presencia de menos de 1 % de células teñidas de naranja indica embarazo de 34 semanas de gestación; de 1 a 10 % de células coincide con una gestación de 34 a 38 semanas; de 10 a 50 % de células teñidas de color naranja se considera exponente de una gestación superior a 40 semanas de gestación.



## DESARROLLO HISTORICO DE LA VALORACION DE LA MADUREZ FETAL.

Para valorar la madurez fetal se ha recurrido a - métodos de laboratorio e indicadores clínicos y de estos últimos los más empleados son el cálculo de la edad gestacio-  
nal a partir del primer día del último período menstrual, - la medición del tamaño del útero y la estimación del peso - del feto por palpación abdominal.

Los principales métodos de gabinete y de laboratorio para la estimación de la madurez fetal incluyen estudios radiológicos de las estructuras óseas del feto, medición ultrasónica del tamaño fetal, determinación de estriol en orina materna. Sin embargo, estos indicadores y métodos no -- son siempre fidedignos, especialmente en embarazos complicados (16).

### INDICADORES CLINICOS.

A) Duración calculada de la gestación a partir de fecha de última regla.- Como en la mayoría de los casos no se dispone de la edad verdadera del feto, o sea el tiempo - transcurrido a partir de la concepción, suele utilizarse como tiempo de referencia el primer día del último período -- menstrual.

La duración de un embarazo a partir de esta fecha es comunmente catalogada como edad postmenstrual o edad gestacional.

La edad postmenstrual se refiere a la edad en -- días, desde el primer día del último período menstrual hasta el momento del nacimiento.

Como en todos los fenómenos que ocurren en la naturaleza, debe aceptarse una variación biológica en la --- edad gestacional. Esta diferencia es en parte debida a la variación fisiológica normal en el lapso entre el primer - día del último período menstrual y la ovulación y desde la ovulación a la implantación.

Por otra parte, no hay duda de que algunos pro-- ductos requieren más tiempo de permanencia en el útero que otros para lograr su completo desarrollo. Se complica la variación normal cuando la madre no está segura respecto - al primer día del último período menstrual (17).

B) Estimación del peso fetal.- A menudo es el peso calculado del feto in útero más que la edad postmens--- trual lo que determina si procede la inducción del parto o la cesárea. En 1950 aceptaron la definición de premadurez basada en el peso al nacimiento, tanto la Organización Munundial de la Salud como la Academia Norteamericana de Pedia- tría. Desde entonces, se ha reconocido que los neonatos - de peso similar al nacimiento no constituyen un grupo homomogéneo y que surgen problemas clínicos completamente distintintos en recién nacidos con los mismos pesos al nacimiento - pero con diferentes edades gestacionales. La clara com--- prensión de este concepto ha inducido el desarrollo de una

comprensión de este concepto ha inducido el desarrollo de -- una clasificación de los productos según el peso al nacimiento y la edad gestacional, de manera que cada recién nacido - puede compararse con la población como un todo.

Las clasificaciones usadas con más frecuencia son - cartas o gráficas en que se emplean percentiles o desviaciones estándar de la media. Los grupos de edad gestacional de pretérmino, término y posttérmino se subdividen a su vez según el peso en categorías de recién nacidos pequeños, apropiados y grandes para su edad gestacional (18,22).

C) Estudios Radiológicos.- El más antiguo y quizá el más a menudo empleado de los métodos de gabinete para la valoración de la madurez fetal es el examen radiográfico del feto in útero y la más utilizada de estas técnicas implica - la identificación, caracterización, o ambas, de los centros de osificación. El centro de osificación distal del fémur - puede demostrarse in útero y en recién nacidos normales por estudio radiológico hacia las 36 semanas de edad postmenstrual, y el centro de osificación proximal de la tibia hacia las 38 semanas de dicha edad postmenstrual. Aunque no existe unanimidad al respecto, la mayor parte de estudios indican que cuando es posible visualizar la epifisis femoral distal en una radiografía prenatal, el feto se halla maduro en más de 95 % de los casos.

Sin embargo, ciertas dificultades técnicas, como - superposición de la rodilla del feto sobre la columna verte-

bra. de la madre y los movimientos fetales durante la exposición radiográfica pueden dificultar la identificación de centros de calcificación en los fémures en 20 % aproximadamente de aquellos fetos en quienes se comprueba calcio visible después del parto, lo cual impide formular predicciones válidas salvo cuando se reconoce definitivamente los centros fetales. La falta de osificación de epífisis femoral distal puede ser debida a poca edad del feto o a demora de la osificación como se observa en productos de madres diabéticas, en productos hipóteroideos y en los casos clasificados como pequeños para su edad gestacional (19).

D) Mediciones Ultrasónicas.- Las mediciones ultrasónicas figuran entre los métodos de gabinete más novedosos para valorar el crecimiento fetal. El principio básico de la técnica ultrasónica implica el uso de ondas sonoras intermitentes o pulsátiles de frecuencia muy alta proyectadas desde un cristal bajo control direccional. Los ecos son identificados por el mismo cristal que produce el haz ultrasónico original. Las señales del eco se presentan sobre la pantalla de un tubo de rayos catódicos de manera que se forma progresivamente una imagen bidimensional del contenido intrauterino sobre la pantalla a medida que el haz ultrasónico atraviesa el abdomen.

El crecimiento del cerebro reflejado por el diámetro biparietal del cráneo fetal, es al parecer menos afectado que el peso o la longitud del cuerpo por los cambios de --

las condiciones intrauterinas y constituye uno de los índices más fidedignos de la duración de la gestación.

Un eco procedente de las estructuras de la línea media del cerebro fetal garantiza que la sección transversal se halla en el plano biparietal o cerca del mismo. Cuando se identifican los lados de ambos biparietales, se obtiene la medición del diámetro biparietal del cráneo fetal en la dimensión transversal más ancha desde la parte externa de la línea respectiva. Las mediciones con calibrador del diámetro biparietal de productos han confirmado la exactitud de las mediciones del eco obtenidas in útero inmediatamente antes del nacimiento. La diferencia entre las mediciones in vivo e in vitro puede ser menor de 2 a 3 mm. Como la técnica es fácil de aplicar, no resulta molesta para la madre y no entraña peligro alguno para el feto, son posibles las determinaciones en serie (20,21).

## C A P I T U L O   I I

### ASPECTOS FISIOLÓGICOS:

Síndrome de Dificultad Respiratoria del Re  
cien Nacido.

Identificación del Embarazo de Alto Riesgo.

Tensión Superficial e Interfacial. Generalidades.

Actividad Superficial.

Agente Tensoactivo Pulmonar. Propiedades Fisico-  
químicas.

Respiración Perinatal y Neonatal.

## ASPECTOS FISIOLÓGICOS.

Todos los aspectos de las enfermedades pulmonares se relacionan con alteraciones de la ventilación y la perfusión, (23). Como la ventilación depende de la perfusión y, al mismo tiempo, ésta depende de aquélla, es indispensable comprender la fisiología básica del árbol respiratorio y del lecho vascular pulmonar.

En el nacimiento, el árbol respiratorio tiene poco músculo liso, pero al año de edad, ha aumentado ya a una cantidad comparable a la que se presenta en el joven adulto. No todo el músculo liso está bajo el dominio del sistema nervioso; en la unidad respiratoria, también se halla regulado el músculo liso por factores humorales. En el recién nacido, en cambio, dicho músculo del lecho vascular pulmonar está sumamente agrandado y es muy reactivo. Al año de edad, la masa del músculo liso del lecho vascular ha disminuído y es comparable a la del adulto (23).

## SÍNDROME DE DIFICULTAD RESPIRATORIA EN EL RECIEN NACIDO.

(Enfermedad de Membrana Hialina).

El síndrome de dificultad respiratoria es un complejo sintomático que afecta esencialmente tan sólo a lactantes prematuros. Sin embargo, todo clínico recuerda niños a término por la fecha o por el peso al nacimiento que todavía desarrollan el síndrome clásico de dificultad respiratoria. En la actualidad es posible explicar este hecho ya que es --

factible medir la madurez del pulmón fetal in útero. Los -- lactantes que padecen síndrome de dificultad respiratoria -- son aquellos cuyos pulmones no están maduros al nacimiento, y esta falta de madurez pulmonar puede ser independiente de la edad gestacional o del peso al nacimiento (24).

En lactantes con síndrome de dificultad respiratoria está netamente disminuído el volúmen del pulmón. Se observan en estos casos cortocircuitos intrapulmonares, desviación de la sangre a través del agujero oval y conducto arterioso, edema intenso y con frecuencia hipotensión periférica y pulmonar. El complejo sintomático de taquipnea, quejido espiratorio, retracciones, necesidad de oxígeno y cambios radiológicos tienen su origen en la incapacidad del paciente -- para conservar permeables los alveólos durante la espiración. Casi todos los demás fenómenos, observados en el curso de la enfermedad, son consecuencia de este colpaso alveolar.

El desarrollo de la fisiopatología de esta enfermedad se caracteriza por su gran variación. Desde unas cuatro horas después del comienzo ya existen atelectasia y edema -- pulmonar manifiesto, y a las ocho horas puede apreciarse empeoramiento evidente de la atelectasia.

Por otra parte se encuentran membranas hialinas en los bronquiolos terminales sobredistendidos y en los conductos alveolares adyacentes a las zonas atelectásicas, compuestas de acúmulos de detritos, incluyendo apitelio del conducto alveolar necrosado, eritrocitos y proteínas séricas enclada



vadas en una matriz de fibrina. Hacia las 18 o 19 horas en el lactante con síndrome de dificultad respiratoria fulminante tratado tan sólo con oxígeno se encuentra ausencia casi total de aire en el pulmón, considerada ya clásica, membranas hialinas en los conductos alveolares y bronquiolos respiratorios dilatados, congestión manifiesta de las arteriolas pulmonares, así como ingurgitación general vascular y hemorragia en los alveolos. Tiene carácter importante la intensa obstrucción de los linfáticos pulmonares, a veces por líquido fibrinoso, restringida al pulmón ya que no se observa en ninguna otra parte del cuerpo de estos niños.

Estos hallazgos junto con las membranas hialinas pueden depender en gran medida del tratamiento así como de la enfermedad propiamente dicha, y los cambios observados -- quizá sean debidos a lesión del epitelio respiratorio y de otras células por concentraciones muy elevadas de oxígeno.

En las etapas de reparación de la enfermedad desarrolla nuevo epitelio por encima y por debajo de las membranas hialinas a medida que proliferan nuevas células.

La membrana tiende a separarse siendo entonces engullida por macrófagos. El revestimiento adopta finalmente el aspecto característico de los bronquiolos respiratorios normales a medida que proliferan nuevos alvéolos.

Manifestaciones Clínicas del Síndrome de Dificultad Respiratoria.- El diagnóstico de este síndrome requiere ciertos principios, el más importante de los cuales es que el lactante no es capaz de conservar oxigenación adecuada --

con aire atmosférico solamente, apareciendo cianosis si no se administra oxígeno externo. Se aprecia un quejido claramente audible a la espiración, y el estudio radiológico revela una imagen reticulogranulosa con disminución del volumen pulmonar. Por último, la "enfermedad" del lactante durará 24 horas o más.

Son evidentes la disnea y taquipnea, así como el déficit en cuanto al intercambio de aire por auscultaciones. Mientras el niño respira se aprecian retracciones con tiraje intercostal, suprasternal, subesternal y esternal, actuando los músculos esternocleidomastoideos como accesorios de la respiración. La boca está entreabierta y las ventanas nasales dilatadas. Cuando no es requerida más interferencia clínica que la administración de oxígeno, el curso natural de la enfermedad es de tres a cinco días.

Aunque muchas de las enfermedades pulmonares del lactante recién nacido como la infección y la aspiración pueden producir taquipnea intensa, el cuadro clínico completo del síndrome de dificultad respiratoria es remedado poco después del nacimiento tan solo por la taquipnea transitoria -- (síndrome de dificultad respiratoria tipo II), caracterizado porque el recién nacido no es capaz de eliminar el líquido de sus pulmones y puede presentar manifestaciones de síndrome respiratorio tan solo en forma pasajera, quedando asintomático después de un período relativamente breve, casi siempre inferior a 24 horas.

En casos raros el edema pulmonar al nacimiento tal

como se observa en el lactante hidrópico con enfermedad de Rh grave puede producir un complejo sintomático similar. Es también esencial identificar a los lactantes con circulación fetal persistente y síntomas respiratorios graves desde el nacimiento o poco después (24).

**Datos de Laboratorio:** Las concentraciones de gases en la sangre son casi normales en los casos leves y al principio de la enfermedad. En los lactantes seriamente afectados, la tensión de oxígeno arterial es baja, con bajo pH por los productos metabólicos. La elevación de la  $PCO_2$  es signo que empeora el pronóstico, pues significa que existen acidosis -- respiratoria y metabólica combinadas. La baja tensión de oxígeno arterial independientemente de la administración de oxígeno es otro signo grave y desfavorable, que indica un aumento de la desviación de la sangre de derecha a izquierda y hacia el pulmón. El lactato es el principal producto metabólico que causa la acidosis metabólica, reflejando así la hipoxia tisular. Los niveles de potasio en el suero ascienden al progresar la enfermedad.

**Datos radiológicos:** Las radiografías de tórax revelan granularidad fina, difusa, y broncograma aéreo.

**Exámenes Especiales:** Los estudios de funcionamiento pulmonar muestran pulmones pequeños, tiesos, con reducida circulación sanguínea eficaz en los mismos.

**Diagnóstico Diferencial:** El síndrome de sufrimiento respiratorio se tiene que diferenciar de la neumonía, el neumotórax, el neumomediastino, el enfisema lobar, la hemorragia

pulmonar, la hernia diafragmática, la hemorragia en el sistema nervioso central, la insuficiencia cardíaca congénita y la debilidad o la parálisis neuromuscular. (23).

## IDENTIFICACION DEL EMBARAZO DE ALTO RIESGO.

| CAUSAS:  | TRATAMIENTO:  |
|--|---|
| 1.- Hipoxemia Materna  | Oxígeno   |
| a) Hipoventilación   |   |
| b) Padecimientos pulmonares y cardíacos.   |   |
| 2.- Perfusión Reducida en el Espacio Interveloso   |   |
| a) Incremento en el tono basal y frecuencia de las contracciones uterinas.                                 | Beta-estimulantes (alcohol?)  |
| b) Compresión o torsión del cordón umbilical.  | Cambio de Posición decúbito.  |
| c) Hipotensión materna:  |   |
| I. Síndrome hipotensivo supino   | Posición lateral izquierda o - desplazamiento uterino izquierdo.                                    |
| II. Bloqueo subaracnoideo  | Infusión intravenosa de 500 a 1000 ml de solución electrolítica balanceada o expansores del Plasma. |
| III. Anestesia general (hidrocarburos fluorados; halotano) y tiobarbituratos. Shock hemorrágico y séptico. |   |
| d) Insuficiencia placentaria Hiperexcitabilidad materna (elevación de catecolaminas)                       | Intervención obstétrica.<br>Sedación, analgesia y/o anestesia.                                      |
| e) Hipertensión materna (preeclampsia, eclampsia, vasoconstricción).                                       | Clorpromazina 2.5 mg. I.V.: agentes bloqueadores ganglionares: alcaloides de la rauwolfia           |
| f) Bajo gasto cardíaco materno   | Drogas cardiotónicas  |
| g) Bajo gasto cardíaco fetal (anestésicos locales)   | Retardo en el parto.<br>Transfusión sanguínea.  |
| 3.- Anemia Materna Marcada   | Transfusión sanguínea intrauterina (o exsanguíneotransfusión)                                       |
| 4.- Anemia Fetal Marcada (eritroblastosis).  |   |
| 5.- Metahemoglobinemia Materna (prilocaína)  | Azul de Metileno IV.  |
| 6.- Acidosis Metabólica Materna: de prolongada duración.   | Buffers orgánicos y glucosa IV  |
| 7.- Alcalosis Metabólica Materna de grado marcado  | Cloruro de amonio.  |

## TENSION SUPERFICIAL E INTERFACIAL. GENERALIDADES.

Es bien sabido que existen fuerzas atractivas de -- Van der Waals de corto alcance entre las moléculas y que éstas son responsables de la existencia del estado líquido. Los fenómenos de tensión superficial e interfacial se pueden explicar fácilmente en función de estas fuerzas. Las moléculas -- que están situadas en el seno de un líquido están sometidas a fuerzas iguales de atracción en todas direcciones, mientras -- que las que están situadas, por ejemplo, en una interfase líquido-aire experimentan fuerzas atractivas no equilibradas -- con un empuje resultante hacia el interior. Tantas moléculas como sea posible abandonarán la superficie para pasar al interior del líquido, con lo cual la superficie tenderá a contraerse espontáneamente. Por esta razón las gotas de líquido y -- las burbujas de gas tienden a tomar una forma esférica.

La tensión superficial  $\sigma$ , de un líquido se define -- como la fuerza en dinas que actúa perpendicularmente a cualquier línea de 1 cm de longitud en la superficie del líquido y tiene las unidades de dina/cm. La energía libre superficial de un líquido se define como el trabajo, en ergios, necesario para aumentar en 1 cm<sup>2</sup> la superficie de un líquido y -- tiene las unidades equivalentes dimensionalmente a ergios/cm<sup>2</sup>. La tensión y la energía libre superficial de un líquido son -- numéricamente iguales, siempre que la viscosidad del líquido no sea demasiado grande.

Las mismas consideraciones valen para las interfa--

ses entre dos líquidos no miscibles.

De nuevo hay un desequilibrio de fuerzas intermoleculares, pero de magnitud inferior. Las tensiones interfaciales normalmente tienen valores situados entre los de las tensiones superficiales de los dos líquidos en cuestión.

Lo dicho hasta ahora presupone una situación estática. Sin embargo, una superficie de líquido aparentemente --- tranquila está en un estado de extraordinaria turbulencia a escala molecular, como consecuencia del tráfico en dos direcciones entre el seno del líquido y la superficie y entre la superficie y la fase de vapor. El promedio de la vida media de una molécula en la superficie de un líquido es alrededor de  $10^{-6}$  segs. (25).

Fenómenos de Superficies Curvas.- Como consecuencia de la tensión superficial existe a través de cualquier superficie curva una diferencia de presión equilibradora, siendo la presión mayor sobre el lado cóncavo. Para una superficie curvada con unos radios de curvatura principales  $r_1$  y  $r_2$ , esta diferencia de presión viene dada por la ecuación de Young-Laplace,  $\Delta P = \gamma (1/r_1 + 1/r_2)$ , que se convierte en -----  
 $\Delta P = 2\gamma/r$ , para superficie esférica.

Sobre una gotícula pequeña, en la que el cociente superficie/volumen es alto, la presión de vapor es mayor que sobre la superficie plana correspondiente. La transferencia de líquido desde una superficie plana a una gotícula requiere un gasto de energía, puesto que el área  $\gamma$ , por tanto, la ener

gía libre superficial de la gotícula, aumentará.

Si el radio de una gotícula aumenta de  $r$  a  $r+dr$ , la superficie aumenta de  $4\pi r^2$  a  $4\pi (r+dr)^2$ ; es decir, en  $8\pi r dr$ , y el aumento en energía libre superficial será de  $8\pi\gamma r dr$ . Si este proceso lleva consigo la transferencia de  $dn$  moles de líquido de la superficie plana con una presión de vapor  $P_0$  a la gotícula con una presión de vapor  $P_r$ , el aumento de energía libre vale  $dnRT \ln P_r/P_0$ , suponiendo que se cumple la ley de los gases ideales. Igualando estos aumentos de energía libre:

$$dnRT \ln P_r/P_0 = 8\pi\gamma r dr$$

y como:

$$dn = 4\pi r^2 dr \rho/M$$

tenemos que: 
$$RT \ln P_r/P_0 = \frac{2\gamma M}{\rho r} = \frac{2\gamma V}{r}$$

donde  $\rho$  es la densidad del líquido,  $V$  el volumen molar del líquido y  $M$  la masa molecular.

Los métodos para efectuar las medidas de la tensión superficial e interfacial de los líquidos son los siguientes:

- 1.- Método de la elevación del capilar.
- 2.- Método de la placa de Wilhelmy.
- 3.- Método del anillo.
- 4.- Métodos del volumen y del peso de la gota.
- 5.- Método de la gota pendiente.
- 6.- Método de la vena líquida variable.



## ACTIVIDAD SUPERFICIAL.

Las sustancias tales como ácidos grasos, fosfolípidos y alcoholes de cadena corta son solubles tanto en agua como en hidrocarburos (aceites). La parte hidrocarbonada de la molécula les confiere su solubilidad en el aceite, mientras que el grupo de cabeza polar,  $-\text{COOH}$  u  $-\text{OH}$  polar tiene la suficiente afinidad con el agua para solubilizar una cadena corta no polar y formar disoluciones acuosas. Si estas moléculas se sitúan en una interfase aire/agua o aceite/agua, se colocan con sus grupos hidrofílicos en la fase acuosa y dejan que las colas hidrocarbonadas hidrofóbicas escapen a la fase vapor o aceite. Esta situación es energéticamente más favorable que la disolución completa en cualquiera de las dos fases.

La fuerte adsorción de estas sustancias a las superficies e interfases en forma de una capa monomolecular orientada (o monocapa) se llama "actividad superficial". Las sustancias con actividad superficial (o tensoactivos) son moléculas que tienen partes polares y no polares (anfifílicas). La actividad superficial es un fenómeno dinámico, puesto que el estado final de una superficie o interfase representa un equilibrio entre estas tendencias a la adsorción y la tendencia hacia la disolución completa debido a la agitación térmica de las moléculas.

La tendencia de las moléculas tensoactivas a acumularse en la interfase favorece una expansión de la misma, lo

cual ha de ser contrarrestado por la tendencia de la interfase a contraerse bajo las fuerzas normales de la tensión interfacial.

Si  $\pi$  es la presión expansiva (o presión superficial) de una capa adsorbida de tensoactivo, la tensión superficial (o interfacial) vendrá disminuída hasta un valor:

$$\gamma = \gamma_0 - \pi$$

En una serie homóloga de alcoholes grasos como son: Etanol, n-Propanol, n-Butanol, n-Pentanol, n-Hexanol, el efecto sobre la tensión superficial del agua es: cuanto mayor es la cadena hidrocarbonada, mayor es la tendencia de las moléculas del alcohol a absorberse en la superficie aire/agua y, -- por tanto, a disminuir el valor de la tensión superficial. -- Una generalización aproximada, conocida como regla de Traube, indica que para una serie homóloga determinada de tensoactivo, la concentración necesaria para la misma disminución de la -- tensión superficial, disminuye por un factor de alrededor de tres por cada grupo  $\text{CH}_2$  adicional. (25).

## AGENTE TENSOACTIVO PULMONAR. PROPIEDADES FISICOQUIMICAS.

Los alvéolos pulmonares pueden compararse a una serie de burbujas dispuestas en paralelo. Como las burbujas, - los alvéolos obedecen al principio establecido por la ecuación de Laplace, el cual define en esencia que la fuerza de - la pared de una burbuja es inversamente proporcional a su radio. Así, cuando los alvéolos disminuyen de volumen durante la espiración aumenta la tensión de sus paredes. Por otra, - parte, como los alvéolos deben retener aire y no colapsarse - al final de la espiración, es necesaria alguna substancia de revestimiento que disminuya estas fuerzas de tensión superficial que tienden a colapsar los alvéolos estabilizando así es tos espacios aéreos diminutos. (24)

El revestimiento de los alvéolos ha sido descrito - como una emulsión de aire en líquido con incontables burbujas emulsionadas. Posee dicho revestimiento los diversos "com--- puestos tensoactivos" integrantes de un complejo que disminuye la tensión superficial en las paredes de los alvéolos du-- rante la espiración.

Clements (26), ha comprobado que los extractos salinos de pulmón normal de mamífero presentan cambios de tensión superficial medidos en una balanza modificada de Wilhelmy con disminución de dicha tensión al comprimir la superficie. Avery y Mead (27), demostraron ausencia de propiedades en cuanto a disminución de la tensión superficial en extractos salinos de pulmón procedentes de lactantes muertos por enfermedad de

membrana hialina comparados con extractos de pulmones de niños que perecieron por causas no pulmonares, (24).

Propiedades Fisicoquímicas.- Los estudios del agente tensoactivo pulmonar aislado in vitro han revelado las siguientes propiedades que observamos pueden ser las más importantes para la función pulmonar:

1.- Sobre la compresión de la película superficial, la tensión superficial disminuye hasta menos de 10 dinas/cm.

2.- La tensión superficial permanece por abajo de 10 dinas/cm a 37°C por más de algunos segundos si la superficie comprimida se conserva estable. Análogamente, in vivo, el alvéolo comienza primero a colapsarse minutos después de que la ventilación se detiene.

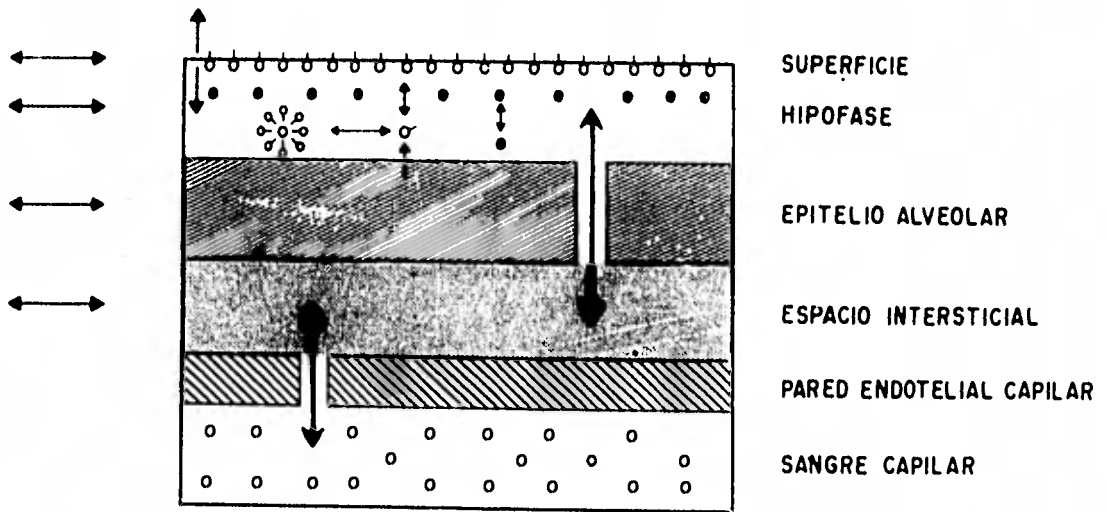
3.- El tensoactivo puede ser absorbido relativamente rápido de la solución a la superficie. Esta propiedad puede ser crítica cuando la capa superficial ya está establecida al nacimiento.

4.- La compresión de la película superficial con el agente tensoactivo que se encuentra en un estado de "empacado comprimido" (monocapa), con una tensión superficial "en equilibrio" (de alrededor de 25 dinas/cm), causa una rápida caída de la misma. Un tensoactivo de buena calidad disminuye la tensión superficial de un rango de 8 a 20 dinas/cm hasta 5 dinas/cm o menos cuando la superficie está comprimida a sólo el 80 % de su área original.

5.- La cantidad de tensoactivo debe ser suficiente para cubrir el área superficial con una monocapa de fosfolípi

dos de superficie activa. Aparentemente la cantidad total de fosfolípidos superficialmente activos que produce el pulmón fetal es mucho mayor (28).

# ESQUEMA I



○ SUS TENSIÓACTIVAS  
● IONES

## ESQUEMA (TEORICO) DEL LIQUIDO ALVEOLAR Y LA DINAMICA MOLECULAR

- 1.- Las moléculas de tensoactivo absorbidas se mueven en el mismo plano de la superficie durante las grandes compresiones y descompresiones que sufre la película superficial y los cambios del volúmen pulmonar entre áreas -- que van de baja tensión superficial hacia áreas de alta tensión superficial tienden a disminuir o minimizar la tensión superficial total.
- 2,3.- Tensoactivos absorbidos (quizás formando complejos con otros componentes del sistema tensoactivo), pueden colapsar la superficie o penetrar a la hipofase.
- 4.- Entran y salen de la superficie a la hipofase.
- 5.- En la hipofase, pueden estar agregados o asociados con otros componentes del sistema, por ejemplo, proteínas.
- 6.- Estos tensoactivos secretados por la células o neumocitos tipo II, entran en equilibrio las moléculas que se encuentran en la superficie con las que se encuentran en la hipofase.
- 7.- Los contraiones (p. ej.:  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ) de la hipofase, parecen ser esenciales para la reducción de la tensión superficial existente a una tensión mínima.
- 8.- La superficie extendida está gobernada por algunos factores que la controlan incluyendo la tensión superficial.
- 9.- La hipofase extendida puede seguir a la superficie extendida también, causando una superficie irregular en la membrana celular que entonces pueden ser rellenadas por

el contenido de la hipofase.

10,11 y 12.- El movimiento del líquido entre la hipofase, -- intersticio y capilares está determinado por el balance de fuerzas incluyendo presiones intrapleurales e intersticiales, presiones hidrostáticas, presiones coloido-osmóticas y tensión superficial alveolar (29).



## RESPIRACION PERINATAL Y NEONATAL (29) .

El nacimiento puede ser definido como el proceso mediante el cual el líquido pulmonar llega a ser transformado - en aire pulmonar cuando el ambiente uterino es abandonado. Esto es la clave fisiológica del fenómeno universalmente observado en la sala de parto (expulsión) durante los a veces críticos primeros 5 minutos de vida en el ser humano.

Así pues, las condiciones para el nacimiento pueden ser enumeradas como sigue:

1) Iniciación de un patrón de respiración regular, rítmico y controlado.

2) Rápida resorción del líquido pulmonar al empuje del aire respirado y la producción de la capa de recubrimiento alveolar normal.

3) Desarrollo y mantenimiento de estática propia y mecanismos de dinámica pulmonar para permitir fácil ventilación y formación de una capacidad funcional residual normal.

4) Ajustes circulatorios apropiados los cuales deberán cambiar las rutas de circulación en paralelo que llegan a ser circulación en serie.

5) Establecimiento de apropiadas relaciones ventilación-a-perfusión y capacidad de difusión de gas.

Antes de que el trabajo de parto se inicie, al término normal, el feto se encuentra en una situación segura y estable.

Se establece la habilidad para sostener movimientos

respiratorios rápidos. El pulmón está lleno de líquido (líquido fetal pulmonar), el cual contiene componentes del sistema tensoactivo del pulmón y probablemente otros productos del metabolismo del tejido pulmonar.

La mayoría de los conductos aéreos del pulmón ya han sido desarrollados a pesar de que el complemento alveolar todavía no está presente (el pulmón al término contiene alrededor de un quinceavo del número de alvéolos que se desarrollarán posteriormente durante los primeros 8 años de vida); el agujero oval, el conducto arterioso y el conducto venoso son circuitos circulatorios importantes mientras el flujo sanguíneo capilar pulmonar es mínimo y la placenta, en lugar del pulmón es el órgano de intercambio gaseoso.

Durante el trabajo de parto y la expulsión el estado inicial es modificado. La ritmicidad de la respiración y el control deben ser ocasionados por los muchos estímulos a los cuáles el feto está expuesto; el líquido pulmonar fetal puede ser extraído bajo la influencia de fuerzas mecánicas externas, y el potencial es reducido para la inhalación de material amniótico o gastrointestinal, el líquido en movimiento tanto a través de la periferia (por ej., alvéolo y capilares) como a través del exterior (por ej., la mayoría de las vías aéreas e hipofaringe); los ajustes circulatorios comienzan como un estado de relativa hipoxemia, hipercapnia y acidemia desarrollada; y el sostén del feto a la placenta comienza a romperse. Este comportamiento es normal de acuerdo al criterio

antes mencionado, la mayoría de las veces.

Respiración Neonatal.- La hipoxemia, hipercapnia y acidemia fetal, ocurren en algún grado durante el curso del trabajo de parto y nacimiento normales. De esta manera, al nacimiento la  $PO_2$  y el pH tienden a bajar y la  $PCO_2$  tiende a ser más alta tanto en el feto durante el trabajo de parto como en el recién nacido una vez instalada la respiración-aérea. Esto ha dejado algo de conclusión sobre que la "asfixia al nacimiento" puede ser el principal estímulo para la iniciación del ritmo respiratorio en el recién nacido.

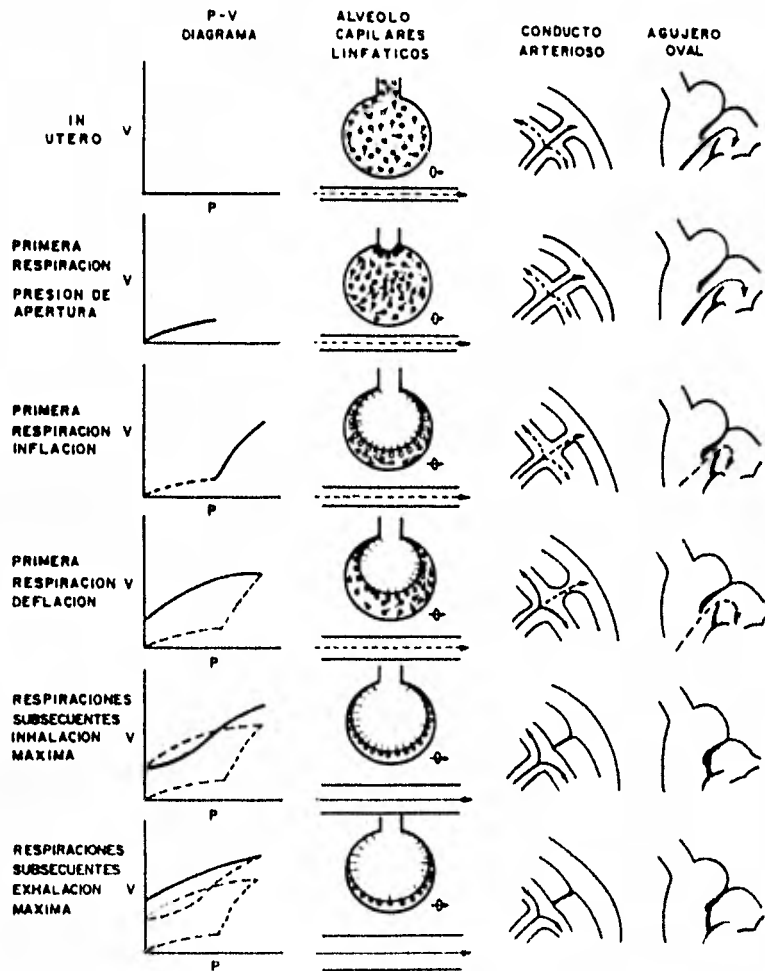
Sin embargo la extensión e importancia de este concepto de "asfixia al nacimiento", es motivo de interés para las investigaciones contemporáneas sobre la homeostasis fetal durante el trabajo de parto. Del mismo modo son considerados otros estímulos que pueden afectar al individuo al nacimiento. Estos son:

- 1) Descenso en la temperatura ambiente.
- 2) Cambio del medio ambiente líquido; de una fase líquida a una aérea.
- 3) Cambio de una condición de "ingravidez simulada" in útero a una ex útero, en la cuál los efectos de la fuerza de gravedad contra una posición del cuerpo debe ser compensada.
- 4) Cambio de un circuito de baja resistencia (la placenta), a la circulación sistémica, y
- 5) Exposición a los estímulos táctiles vigorosos del canal del parto y la atención del personal médico.

Cada una de estas situaciones puede preceder al primer esfuerzo fuerte inspiratorio por el neonato, lo cuál es - seguido por un número de fuertes boquebs (esfuerzos inspiratorios), antes de establecerse los movimientos rítmicos respiratorios.

No sabemos aún cuál de estos estímulos es el principal. Realmente, es plausible hasta el momento concluir que - los estímulos agregados convergen en el individuo, quien ha - sido condicionado previamente para iniciar y sostener un ritmo respiratorio, que producirá la actividad respiratoria normal del recién nacido. (29)

# ESQUEMA II



## REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA RESPIRACION PERINATAL.

1.- Adaptaciones a la primera respiración, in vitro: El pulmón está lleno de líquido, el flujo sanguíneo pulmonar es bajo, y hay considerable flujo, derecha-izquierda a través del conducto arterioso y el orificio oval.

2.- Primera respiración: Debe ser introducida una considerable presión de apertura para que el aire llegue hasta los espacios pulmonares terminales. Después de la presión de apertura, la inflación es relativamente rápida así como el flujo pulmonar comienza a incrementarse, la resistencia vascular pulmonar comienza a caer y (presumiblemente) el flujo desviado de derecha a izquierda se reduce. Durante la deflación el volumen finito de gas permanece en el pulmón (primero, como una capacidad residual funcional), ayudado por las propiedades anticlapso de los tensoactivos pulmonares (que se muestran con la figura  $\phi$ ) y orientados hacia la interfase aire-líquido.

3.- Respiraciones subsecuentes: La capacidad residual funcional continúa incrementándose, como lo hace también el flujo sanguíneo pulmonar las desviaciones del conducto arterioso y el agujero oval eventualmente se cierran y la capa límite alveolar con los tensoactivos pulmonares se estabiliza (29).

C A P I T U L O   I I I

COMPOSICION QUIMICA:

Bioquímica de los Lípidos y Desarrollo  
Bioquímico del Pulmón

Síntesis de Fosfolípidos.

## COMPOSICION QUIMICA (29,30)

## BIOQUIMICA DE LOS LIPIDOS Y DESARROLLO BIOQUIMICO DEL PULMON.

Los esfuerzos en la investigación para determinar la etiología del síndrome de dificultad respiratoria han producido mucha información a los conocimientos recientes sobre el desarrollo bioquímico y anatómico del pulmón fetal. La historia de este síndrome es un ejemplo de como el progreso de las ciencias básicas -en este caso la fisiología, biofísica y bioquímica desarrollada- contribuyen al entendimiento de las enfermedades humanas.

Clasificación y Estructura de los Lípidos.- Ha sido confirmado por muchos autores que la lecitina (dipalmitoil fosfatidil colina), es el principal componente con actividad superficial en el pulmón y que otros fosfolípidos incluyendo la esfingomielina también bajan la tensión superficial significativamente. El conocimiento actual sobre el metabolismo de los fosfolípidos ha crecido notablemente desde los primeros estudios.

Los lípidos son un grupo heterogéneo de sustancias orgánicas que ocurren en la naturaleza y que pueden ser extraídos de las células por solventes no polares (p. ej. -- cloroformo, éter, benceno, etc.) y los cuales son insolubles en agua.

Clasificación de los principales grupos de lípidos:

1.- Acidos Grasos:

1.1 Acidos Grasos Saturados,



- 1.2.- Ácidos Grasos Insaturados.
- 1.3.- Ácidos Grasos Complejos.
- 2.- Derivados del Glicerol:
  - 2.1.- Mono, Di y Triglicéridos.
  - 2.2.- Fosfoglicéridos.
  - 2.3.- Plasmalógenos.
- 3.- Derivados de la Esfingosina.
  - 3.1.- Esfingomielinas.
  - 3.2.- Ceramidas.
  - 3.3.- Cerebrósidos.
  - 3.4.- Glangliósidos.
- 4.- Esteroles.
- 5.- Alcoholes Alifáticos.
- 6.- Ceras.
- 7.- Terpenos.
- 8.- Lípidos Complejos.
  - 8.1.- Lipoproteínas.
  - 8.2.- Proteolípidos.

Los de nuestro interés primario son los siguientes:

a) Ácidos Grasos y b) Fosfolípidos.

a) Ácidos Grasos.- Son ácidos orgánicos que se encuentran libres en la naturaleza compuestos de una larga cadena hidrocarbonada con un grupo carboxilo terminal. Son -- constituyentes importantes de otros lípidos tales como: acil gliceroles, fosfoglicéridos, y esfingolípidos, y aparecen en estado libre sólo en pequeñas cantidades (trazas).

La estructura de la cadena hidrocarbonada es extremadamente importante para la biología de los ácidos grasos, especialmente cuando están incorporados a otros lípidos.

La cadena hidrocarbonada puede estar totalmente saturada por ejemplo, cuando no contiene ningún doble enlace, o puede estar insaturada y tener uno o más dobles enlaces.

Aunque la forma saturada puede tener un infinito número de configuraciones porque existe una libre rotación sobre los enlaces sencillos de C-C; la forma extendida es la más ampliamente distribuida y es la más estable (tiene la menor energía libre).

Los ácidos grasos insaturados tienen una estructura rígida alrededor del doble enlace, se conoce que la configuración trans es más estable que la cis y que los ácidos grasos libres en la naturaleza tienen configuración cis. Esto produce un ángulo de  $30^\circ$  en el enlace de la cadena hidrocarbonada.

Los ácidos grasos están usualmente compuestos de un gran número de átomos de carbono, la mayoría tienen entre 14 y 22 carbonos. De estos, los ácidos grasos  $C_{16}$  y  $C_{18}$  son los más abundantes.

En la mayoría de los órganos, los ácidos grasos son predominantemente insaturados. Una notable excepción la encontramos en el pulmón donde los ácidos grasos saturados especialmente el palmítico se encuentra en grandes can-

tidades.

b) Fosfolípidos.- Los fosfolípidos son la segunda clase de lípidos de mayor interés. Pueden ser divididos en dos grupos generales: derivados del L-glicerol-3-fosfato, o fosfoglicéridos y derivados de la esfingosina. Los fosfolípidos son importantes constituyentes de las membranas celulares y de organelos citoplásmicos tales como la mitocondria. Otros fosfolípidos especializados componen muchas de las capas de mielina de los nervios. Los fosfolípidos pulmonares, grupo relevante posee la propiedad única de bajar la tensión superficial. El L-glicerol-3-fosfato es el compuesto precursor de los fosfoglicéridos. (Fig. 3).

#### CLASES MAYORES DE FOSFOGLICERIDOS:

Fosfoglicérido: X-OH

No ácido:

Fosfatidil Etanolamina  $\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$

Fosfatidil Monometil-etanol-  
amina  $\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2\text{-CH}_3$

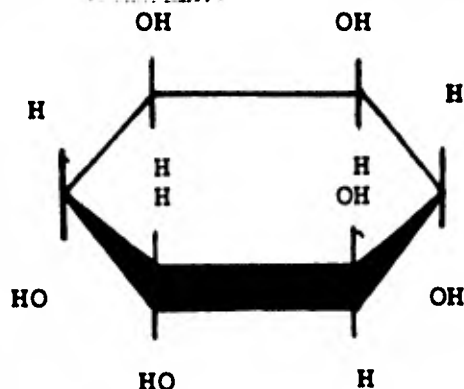
Fosfatidil Dimetil-etanol-  
amina  $\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-NH(CH}_3)_2$

Fosfatidil Colina (lecitina)  
na)  $\text{HOCH}_2\text{-CH}_2\text{-N(CH}_3)_3$

Ácidos:

Fosfatidil Serina  $\text{HOCH}_2\text{-CH-NH}_2\text{COOH}$

Fosfatidil Inositol



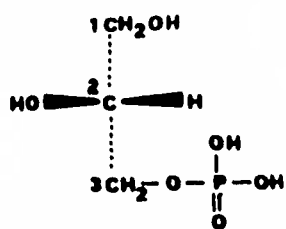
Los diferentes fosfoglicéridos están formados por ácidos grasos esterificados a dos grupos hidroxilo de los carbonos uno(alfa) y dos (beta). Además, un componente alcohólico X-OH, está esterificado al ácido fosfórico formando una unión fosfodiéster.

Los compuestos son nombrados de acuerdo al componente alcohólico, (por ej.: fosfatidil colina (lecitina)). Es importante considerar que cada clase de fosfoglicérido puede tener muchas especies, dependiendo de los ácidos grasos esterificados al esqueleto del glicerol.

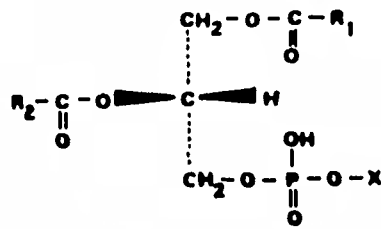
Los esfingolípidos son los mayores componentes de las membranas y están presentes en especialmente grandes cantidades en el cerebro y tejido nervioso. La esfingosina está considerada la molécula precursora (Fig. 3). La esfingomielina es el esfingolípido de interés en el pulmón ya que está presente en cantidades considerables y tiene propiedades significativas de disminuir la tensión superficial.

La esfingomielina está compuesta por la esfingosina una cadena larga de ácido graso, ácido fosfórico y colina.

En contraste a los fosfoglicéridos, con los éste--



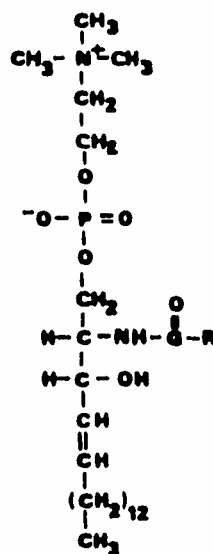
L-α- glicerofosfato



Fosfoglicerido



Esfingosina



Esfingomielina

FIGURA 3

res de acilo el ácido graso se une al esqueleto de esfingosina por medio de un enlace amida.

El ácido graso más común en la esfingomielina del pulmón es el palmitato. La esfingomielina pulmonar tiene -- una estructura similar a la de la dipalmitoil lecitina y es completamente tensoactiva.

#### SINTESIS DE FOSFOLIPIDOS.

Los estudios de la síntesis de fosfolípidos en el pulmón fetal son difíciles de interpretar porque las diferentes especies difieren en el período gestacional, así como en los lapsos de maduración enzimática, y aún en la composición de lecitina tensoactiva. Además de los 20 diferentes tipos de células que son encontradas en el pulmón, solo una de --- ellas sintetiza tensoactivo, las llamadas células tipo II, - del epitelio alveolar.

Esto sucede porque las técnicas de aislamiento y - crecimiento de las células alveolares tipo II en cultivos in vitro están hasta ahora en etapas iniciales de desarrollo, y los estudios de la biosíntesis ha sido necesario efectuarlos fuera del organismo, en homogenados de tejido o in vivo con precursores marcados.

Síntesis de Lecitina.- La síntesis de novo de la lecitina procede por las vías de la Fosfocolín-transferasa - (Fig. 4) y la N-metil-transferasa. Además de estas vías para la síntesis de novo de lecitina, la lisolecitina puede -- ser reacilada para producir lecitina; hay autores que enfati

zan la posible importancia de esta reacción en la síntesis de lecitina tensoactiva. Una vez formado el compuesto acilo de lecitina puede ser modificado por una transacilasa, la cual promueve el intercambio de ácidos grasos entre las moléculas.

Los estudios tanto de pulmón como de hígado, sugieren que la transacilación de los ésteres de ácidos grasos de la lecitina ocurre en una baja o pobre proporción en comparación con la síntesis de novo de la lecitina.

A pesar de estos estudios la relevancia de la actividad de la transacilasa y la reacilación de la lecitina tensoactiva permanece sin demostrarse.

El sistema de la fosfocolina es la principal vía para la síntesis de novo de la lecitina, en el pulmón, así como también en otros órganos del cuerpo.

La reacción es catalizada por la CDP-colina con un D- $\alpha,\beta$ -diglicérido para producir lecitina (Fig. 4). La actividad de la fosfocolina transferasa se encuentra en la fracción microsomal de los homogenados de pulmón y es muy estable en condiciones adversas. Se conoce relativamente poco sobre las propiedades de esta enzima ya que no ha sido todavía aislada.

Aunque la N-metil-transferasa pulmonar ha sido "parcialmente purificada" no ha sido adecuadamente localizada o caracterizada. La metilación activa puede ser demostrada en la fracción microsomal del pulmón y se pudo aislar una proteína soluble que contenía del 2 al 5 % de lípidos.

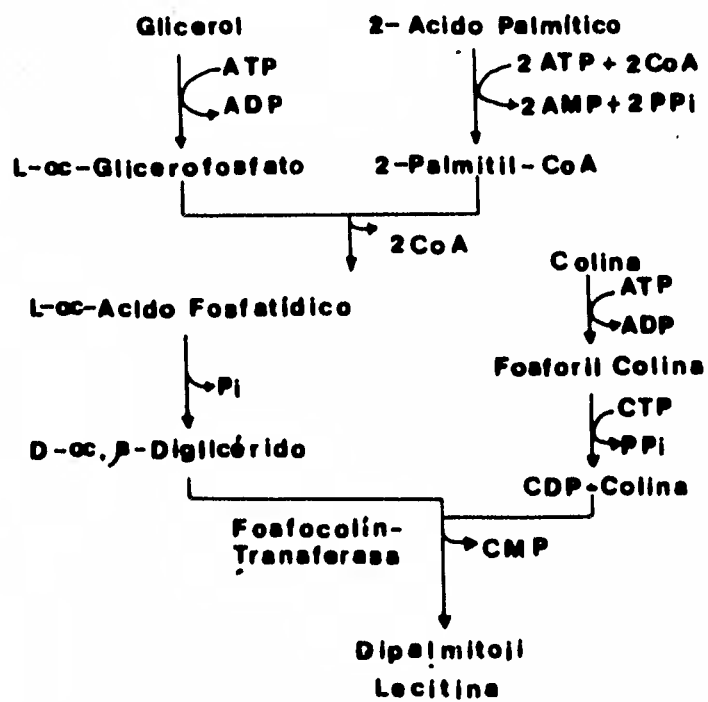


FIGURA 4



La N-metil transferasa cataliza la transferencia de grupos metilo de la S-adenosil-L-metionina al grupo amino de la fosfatidil etanolamina para producir lecitina (Fig. 5).

En el hígado y tejido pulmonar de los animales adultos, la N-metil-transferasa muestra considerable especificidad de sustrato. Los ésteres de acilo de la fosfatidil etanolamina (FE), determina la proporción a la cuál cada especie de Fe es metilada. En el pulmón las velocidades de reacción de la enzima son más altas con la fosfatidil etanolamina disaturada.

Uno de los compuestos intermedios en la metilación de la fosfatidil etanolamina (FDME) fué descrito como altamente tensoactivo y aparentemente presente en el pulmón en cantidades apreciables. Estos estudios no fueron reforzados por otros investigadores, quiénes no encontraron fosfatidil dimetil etanol-amina en el pulmón sino otro compuesto, el fosfatidil glicerol (FG). El fosfatidil glicerol es un compuesto altamente tensoactivo que está presente en los cuerpos lamelares y constituye alrededor del 12 % del fósforo de fosfolípidos totales en el lavado alveolar, lo que lo hace el segundo fosfolípido tensoactivo más abundante. El fosfatidil glicerol parece ser sintetizado en los microsomas y secretado dentro de los cuerpos lamelares. La síntesis de fosfatidil glicerol a partir de L-glicerol-3-fosfato y CDP-diglicérido se incrementa a medida que avanza la gestación y parece ser el compuesto clave en el síndrome de dificultad

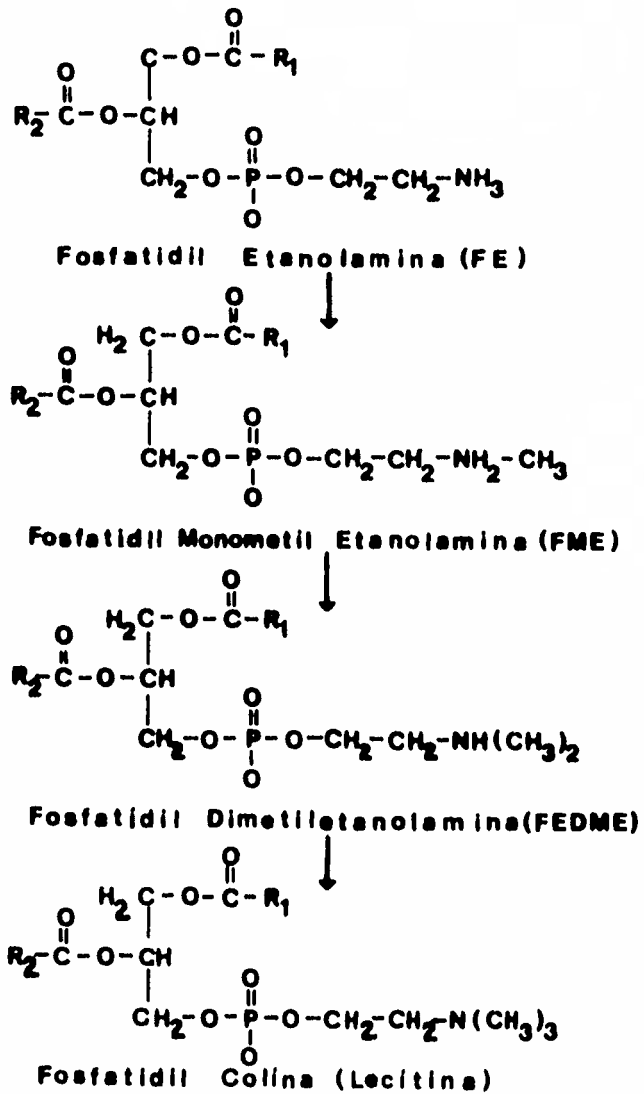


FIGURA 5

respiratoria cuando está ausente o disminuido y el cuál fue erróneamente identificado como el compuesto anteriormente mencionado, la fosfatidil dimetil etanol-amina.

**Síntesis de Esfingomielina.**- Aunque la esfingomielina es un compuesto que se encuentra presente a altas concentraciones en el pulmón se conoce relativamente poco acerca de su metabolismo.

Los detalles en la síntesis de esfingomielina fueron elaborados en tejidos diferentes a los de pulmón, pero presumiblemente son los mismos.

La esfingosina es el compuesto precursor de los esfingolípidos y se forma a partir de palmitoil-CoA, por una serie de pasos enzimáticos. La esfingosina es entonces N-acilada para formar una ceramida (N-acil-esfingosina). En el pulmón el grupo acilo es generalmente el ácido palmítico. La ceramida reacciona entonces con la CDP-colina en presencia de fosfocolina ceramida-transferasa para producir esfingomielina. (Fig. 6).

**Interrelaciones Metabólicas.**- La figura 6, muestra las interrelaciones más importantes del metabolismo de los fosfolípidos con carbohidratos y proteínas. La glucosa proporciona muchos precursores importantes incluyendo Acetil-CoA y L- $\alpha$ -glicerofosfato. Los estudios de la utilización de glucosa por medio de cortes de tejido de pulmón de conejo, indican que es predominantemente integrada a fosfolípidos, a través del esqueleto de glicerol.

Además la glucosa influye en el metabolismo del ace

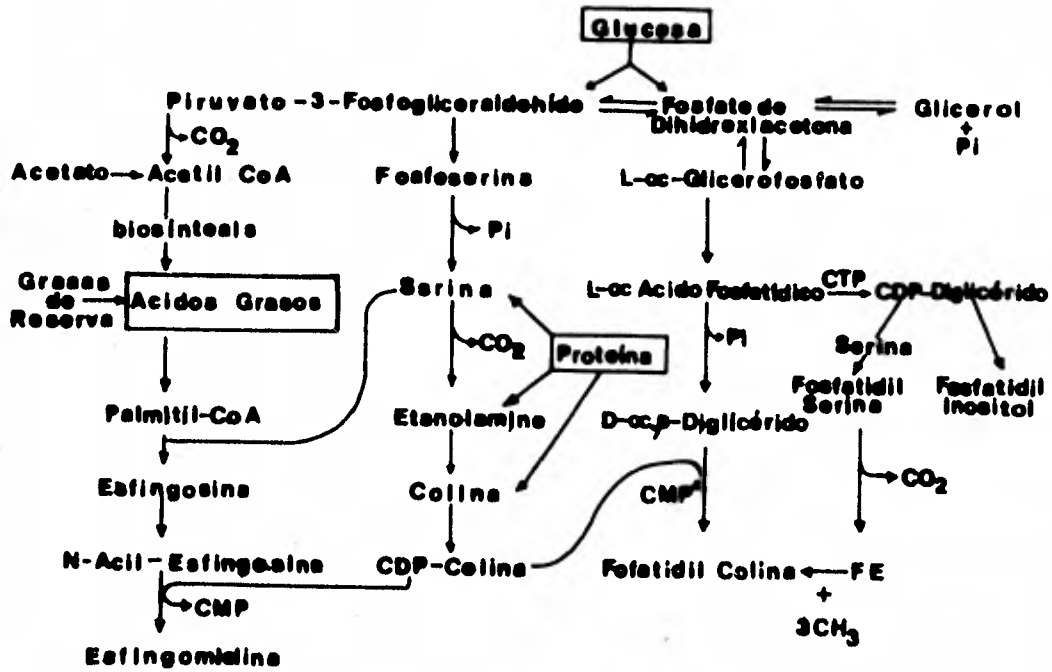


FIGURA 6

tato, incorporando directamente dos unidades C-2 a los ácidos grasos (más que la oxidación a  $\text{CO}_2$ )

En contraste con el hígado el cuál incorpora estos ácidos grasos a triglicéridos el pulmón favorece su incorporación a fosfolípidos. El metabolismo de la glucosa vía hexosa monofosfato en la cual también se genera el NADH necesario para la síntesis de estos ácidos grasos a partir de acetil-CoA y malonil-CoA.

Por esto podemos ver que la glucosa es de importancia primaria y de consideración en el metabolismo pulmonar.

El metabolismo de las proteínas también juega un papel significativo en el metabolismo de los fosfolípidos ya que provee de las bases nitrogenadas colina y etanolamina. - El ATP y CTP son necesarios para convertir estas bases en los precursores CDP-colina y CDP-etanolamina, etc., necesarios para la síntesis de los fosfoglicéridos y esfingomielina.

La mayoría de los tejidos consume lactato de la sangre y tienen una relativamente baja proporción lactato/piruvato. Esta relación se pensó que reflejaba el estado oxidoreducción del NADH-NAD.

En el pulmón no es usual que se produzcan grandes cantidades de lactato y se liberen al líquido extracelular. - Además el tejido pulmonar tiene una relación alta de lactato/piruvato, indicando una gran cantidad de NADH. Se ha sugerido que las altas concentraciones de NADH pueden estimular las reacciones de enlace-NADH, tales como las de conversión de fosfato de dihidroxiacetona a  $\alpha$ -glicerolfosfato. Esto explica

ría la incorporación preferencial del pulmón de la glucosa a los fosfolípidos.

Las concentraciones del gas ambiente también tienen un marcado efecto en el metabolismo pulmonar de ácido -- palmítico. Con una corta exposición de la tensión de oxígeno incrementada, el pulmón aumenta la incorporación de ácidos grasos o fosfolípidos.

Con una exposición prolongada hay una progresiva pérdida de la capacidad pulmonar para sintetizar lecitina di saturada.

De otra manera, la hipoxia aguda disminuye la incorporación de ácidos grasos a fosfolípidos y triglicéridos. Desafortunadamente desconocemos los estudios del efecto combinado de hipoxia, acidemia e hipercapnia en el metabolismo de fosfolípido pulmonar. Esta información sería particularmente útil en el entendimiento de los efectos de la asfixia intrauterina y la dificultad respiratoria en el recién nacido.



TABLA CORRESPONDIENTE AL ESQUEMA DE LA BIOSINTESIS DE FOSFOLÍPIDOS PULMONARES. 31

A.- Síntesis de novo de fosfolípidos.

1.- Síntesis de novo de lecitina y fosfatidil etanolamina.

(I) ATP: colín fosfotransferasa (colín cinasa).

(I') ATP: etanolamín fosfotransferasa (etanolamín cinasa).

(II) CTP: fosfocolín citidiltransferasa (foscolín citidiltransferasa).

(II') CTP: fosforiletanolamina citidiltransferasa (fosforil-etanolamina citidiltransferasa).

(III) Acil-CoA: sn-glicerol-3-fosfato aciltransferasa (glicerol-fosfato aciltransferasa).

(IV) Acil-CoA: 1-acil-sn-glicerol-3-fosfato aciltransferasa (glicerol-fosfato aciltransferasa).

(V) Ácido fosfatídico fosfohidrolasa (fosfatidato fosfatasa).

(VI) CDP-colina: 1,2-diacil-sn-glicerol-colín fosfotransferasa (diglicérido colín fosfotransferasa).

(VI') CDP-etanolamina: 1,2-diacil-sn-glicerol-etanolamina-fosfotransferasa (diglicérido etanolamina fosfotransferasa).

2.1- Síntesis de novo de fosfolípidos ácidos.

(VII) CTP: ácido fosfatídico citidiltransferasa (fosfatidato-citidiltransferasa).

(VIII) CDP-diglicérido: inositol-fosfatidiltransferasa (inositol fosfatidiltransferasa).



(IX) CDP-diglicérido: sn-glicerol-3-fosfato fosfatidiltransferasa (glicerolfosfato fosfatidil-transferasa).

(X) Fosfatidilglicerol fosfato fosfohidrolasa (fosfatidilglicerolfosfato fosfatasa).

B.- Síntesis de lecitina por metilación:

(XI) s-Adenosilmetionina: fosfolípidos metil-transferasas.

(XI-1) s-Adenosilmetionina: fosfatidil-etanolamina metil-transferasa).

(XI-2) s-Adenosilmetionina: fosfatidil-MME y fosfatidil--DME metiltransferasa.

C.- Síntesis de lecitina por acilación de lisolecitina.

(XII) Acil-CoA: lisolecitín aciltransferasa.

(XII-1) Acil-CoA: (1-acil)lisolecitín aciltransferasa.

(XII-2) Acil-CoA: (2-acil)lisolecitín aciltransferasa.

D.- Síntesis de lecitina por transacilación entre dos moléculas de lisolecitina

(XIII) (1-acil)lisolecitina: (1-acil)lisolecitina acil---transferasa.

C A P I T U L O   I V

MADURACION PULMONAR FETAL.

Antecedentes

## MADURACION PULMONAR FETAL

Quizá el problema más importante para la valoración del feto sea disponer de un método que proporcione información fidedigna respecto a su grado de madurez pulmonar. La concentración de fosfolípidos totales en el líquido amniótico aumenta a medida que avanza la gestación; en el último trimestre del embarazo aumenta varias veces la cantidad de lecitina en el líquido amniótico.

Este incremento tiene lugar al mismo tiempo que aumenta la capacidad tensoactiva del pulmón fetal. Como la lecitina es el principal componente del sistema tensoactivo del pulmón y como es sabido que los pulmones del feto contribuyen a la formación del líquido amniótico, la presencia de lecitina en dicho líquido puede ser de origen pulmonar. Estos hallazgos sugirieron que la determinación de las concentraciones de lecitina en el líquido amniótico pueden reflejar el estado de la madurez del pulmón fetal.

Clements y cols. (32) en 1972, fueron los primeros en emplear un método simple y rápido ("shake test": prueba de la espuma), basados en la capacidad del tensoactivo pulmonar para generar espuma estable del líquido amniótico en presencia de etanol, apreciándose tres zonas: negativa, intermedia y positiva. Sus resultados muestran que con embarazos entre la semana 30 a 40 de gestación existe un alto valor predictivo, ya que de un total de 93 neonatos, 68 dieron pruebas positivas con una dilución 1:2 y no desarrollaron el síndrome de

dificultad respiratoria, mientras que en las pruebas negati--vas con una dilución 1:1 si se observó este síndrome en 11 -recién nacidos con una diferencia estadísticamente significa--tiva de  $p < 0.001$ . En las pruebas intermedias los neonatos -presentaron dificultad respiratoria con sintomatología de li--gera a severa. Esto tiene como consecuencia que la prueba --sea considerada con un alto valor predictivo solo para las zo--nas claramente positiva o negativa y no así para la zona in--termedia en la cual la predicción del riesgo es incierta pues de 11 casos considerados como tal solo 4 no desarrollaron el SDR.

No se aplica esta prueba a muestras contaminadas --con sangre o meconio, o líquido de ascitis, así como tampoco se tomó en cuenta el oligo o polihidramios. Tampoco se ha --probado una variedad de estados clínicos en los que pudieran haber variaciones en cuanto a su valor predictivo y en los es--tados transicionales del pulmón fetal en donde es difícil --apreciar el grado de madurez e inmadurez. Sin embargo, este método es preferible para determinar el grado de madurez pul--monar fetal que los métodos clínicos utilizados para evaluar la edad gestacional como son la fecha de última menstruación, etc.

Gluck, en 1971 (3) encontró que durante la gesta---ción los fosfolípidos del líquido amniótico aumentaban su con--centración a partir de la semana 35 ava. De estos, los más im--portantes para la evaluación clínica fueron los fosfolípidos ácidos, principalmente Lecitina y Esfingomielina (Fig. 8). --

RELACION  
LECITINA/ESFINGOMIELINA

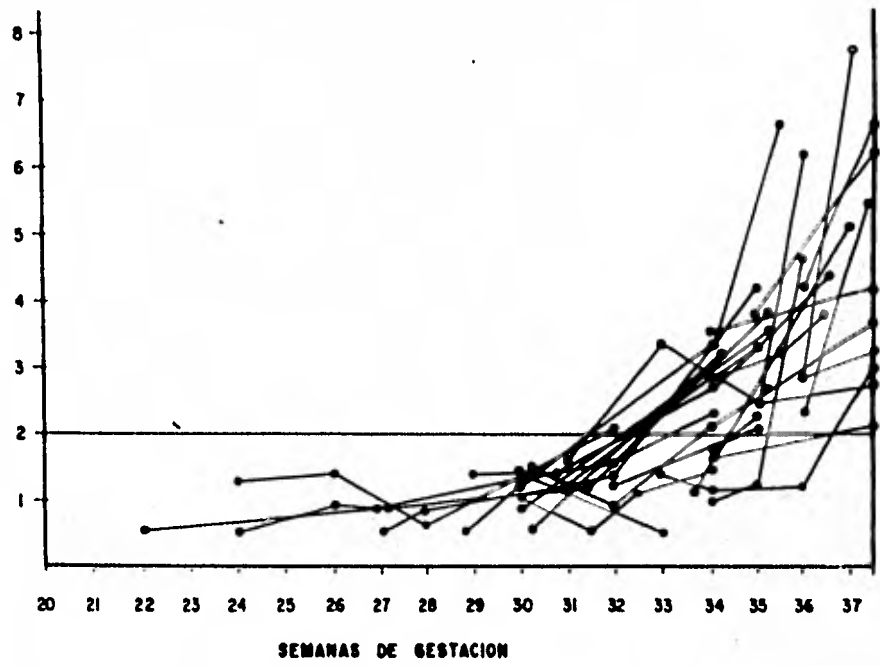


FIGURA 8

(DR. GLUCK)

Hacia la 35 ava. semana de gestación, la concentración de estas dos sustancias estaba en la misma proporción; a partir de este momento y hasta el término del embarazo, la concentración de lecitina ascendía hasta cuatro veces más que la de la esfingomiélinea, indicando con esto que la relación de concentraciones entre estos dos componentes podría ser una base para la evaluación clínica de la madurez del pulmón fetal.

Caspi y cols. en 1974 (33), hicieron estudios comparativos entre tres métodos que valoran el factor tensoactivo pulmonar del feto en el líquido amniótico: la relación L/E, la concentración de lípidos totales y la prueba de la espuma de Clements. Los resultados de estos autores muestran que a relaciones L/E de 2.0 o mayores corresponden valores de fosfolípidos totales de 2.8 mg/100 ml y prueba de la espuma positiva, para los casos reportados como maduros donde no se presentó el SDR; cuando los valores de la relación L/E eran de 1.4 o menores los fosfolípidos totales fueron de 1.5 mg/100 ml o menores y todos los niños tuvieron SDR. De 36 casos con prueba de la espuma negativa 17 niños tuvieron SDR y 19 no lo presentaron; 55 niños no presentaron SDR con la prueba de la espuma positiva y solo 14 tampoco lo presentaron con prueba de la espuma intermedia.

En sus conclusiones consideran que la relación L/E es la prueba más segura para predecir el SDR comparada con los otros dos métodos, pero sigue siendo desventajosa en cuanto a material y costo. Sin embargo en la zona intermedia donde es más difícil asegurar la presencia o ausencia de SDR, se

estableció una diferencia estadísticamente significativa con una  $p=0.001$  cuando se utilizó la relación L/E, donde solo el 3.8 % de los casos tuvo SDR contra los valores de fosfolípidos totales en donde presentaron SDR el 21 % de los casos.

La determinación de los fosfolípidos totales tiene la desventaja de que depende del volúmen total de líquido amniótico. Cuando se compara la prueba de la espuma con la determinación de fosfolípidos totales la zona negativa de la -- primera abarca concentraciones de 0.8 a 3.1 mg % para los fosfolípidos totales que resulta un amplio rango que incluye la zona intermedia de la prueba de la espuma y se extiende hasta concentraciones de 3.0 a 4.1 mg %, y cuando es positiva va de 4.1 a 12 mg % de fosfolípidos totales.

La correlación de la prueba de la espuma y la relación L/E, es todavía menos satisfactoria. La zona negativa de la prueba de la espuma incluye relaciones L/E maduras. De 36 casos con prueba de la espuma negativa, 17 desarrollaron SDR (el 47 % de los casos). Este estudio demostró que la prueba de la espuma es válida para discriminar de forma simple y rápida productos que caen en la zona positiva con muy bajo riesgo de desarrollar SDR aún cuando se hace necesario efectuar -- una prueba cuantitativa en los casos de prueba de la espuma -- negativa.

Russel en 1974 (34), describe un método para apreciar la madurez fetal determinando la composición de ácidos -- grasos en el líquido amniótico por cromatografía de gases, -- que a pesar de ser un método más complicado que el de la pro-

porción L/E da resultados útiles en las muestras de líquido - contaminado con sangre y/o meconio y que además no depende de medidas con respecto a la esfingomielina como lípido de referencia.

Los valores del ácido palmítico se correlacionaron con las evaluaciones clínicas de los pacientes retrospectivamente. Estos valores después de la 35 ava. semana de gesta---ción son significativamente más altos que los valores antes - de esta edad gestacional ( $31.2 \pm 1.3$  contra  $11.9 \pm 1.5$  ( $\bar{x} \pm$  - E.S.)), respectivamente , con una  $p < 0.01$ . El valor del contenido de ácido palmítico de lecitina que separa la "madurez" - de la "inmadurez" es del 20 %, puesto que con valores mayores de éste, los recién nacidos no desarrollaron SDR, mientras -- que con valores menores del 20 % si se presentó el síndrome.

Un hecho importante fue que con muestras contamina--das con sangre o meconio no se encontraron alteraciones en -- los valores del contenido de ácido palmítico de lecitina, ya que en muestras a las cuales se adicionó sangre venosa o pla--centaria no variaron las concentraciones en más del 1.0 %. - Esto, lógicamente indica una gran ventaja que elimina la posibilidad de encontrar variaciones en la relación L/E debidas a este tipo de contaminación, sin embargo la desventaja sigue - siendo el tiempo que se necesita para llevar a cabo este aná--lisis y la necesidad de técnicos expertos en el manejo de es--te tipo de equipo.

Un dato más de estos autores indica que el riesgo -



de desarrollar SDR con valores mayores del 20 % de ácido palmítico, surge en casos de pacientes diabéticas (un caso con diabetes clase C y el 27 % de ácido palmítico, con datos clínicos de SDR en el recién nacido), el cuál sugiere un cierto riesgo de inseguridad en este método tanto como en el de la relación L/E en los mismos casos.

Moore y cols., en 1975 (35), utilizaron también la determinación de ácido palmítico por cromatografía de gases expresado en  $\mu$ g/ml contra la determinación de lecitina total por el método de Bayer expresada en mg/100 ml, en líquido amniótico obteniendo un coeficiente de correlación entre estas dos substancias de 0.93. Estos autores encontraron también que la hidrólisis alcalina aplicada a la lecitina tanto de líquido amniótico como a una muestra pura, no afectaba a la esfingomielina. Los ácidos grasos fueron totalmente extraídos de la solución acidificada con ácido clorhídrico, por medio de éter. Sus resultados sugieren que con concentraciones de 4 mg/100 ml de lecitina 48 hrs. antes del nacimiento y con niveles mayores de 25  $\mu$ g/ml de ácido palmítico, el recién nacido no desarrollará SDR. El autor menciona este método como cuantitativo y rápido ya que es posible analizar las muestras en alrededor de una hora, aunque sigue siendo costoso y requiere de personal y equipo especializados.

Schreyer, en 1974 (6), efectuó un estudio en líquido amniótico determinando y correlacionando los fosfolípidos totales contra la relación L/E en la evaluación de la madurez pulmonar fetal.

En este trabajo el autor propone un método alternativo basándose en que siendo la lecitina tensioactiva el fosfolípido más abundante en el líquido amniótico, es lógico que la determinación de fosfolípidos totales, que requiere de material y equipo menos costoso y complicado resulte un procedimiento simple que puede reflejar la madurez pulmonar fetal.

Las pruebas se efectuaron tanto en embarazos normales como en embarazos complicados por diabetes mellitus, desórdenes hipertensivos del embarazo e insuficiencia placentaria.

En sus resultados se observa que con respecto a la determinación de la relación L/E, los productos que no desarrollaron SDR tuvieron valores de 2.0 o mayores y aquellos que si lo desarrollaron obtuvieron valores de 1.4 o menores. En la zona intermedia que va de 1.5 a 1.9, se encontraron 6 casos de los cuales 2 (33 %), tuvieron SDR; comparando el grupo de niños que desarrollaron SDR con el del que no lo desarrollaron, en el primer caso resultó una media de  $0.95 \pm 0.08$  E.S. y en el segundo fue de  $4.41 \pm 0.54$  E.S. con una  $p < 0.001$ .

En el caso de los valores de fosfolípidos totales, los niños no tuvieron SDR cuando las concentraciones fueron de 2.8 mg % o más, y en todos los casos donde si se presentó, los valores fueron de 1.5 mg % o menores. El promedio de valores para el grupo que tuvo SDR fue de  $1.78 \pm 0.13$  E.S.; en el grupo que no tuvo SDR el promedio fue  $3.55 \pm 0.44$ , con una  $p < 0.01$ .

En la zona intermedia que va de 1.6 a 2.7 mg/100 ml ,

cayeron 21 casos, 11 de los cuales tuvieron SDR y corresponden al 52 %; mientras considerando la relación L/E solo el 14.3 % caen en esta zona y la diferencia entre el número de casos en estas zonas intermedias es estadísticamente significativa con una  $p < 0.001$ , usando la prueba para establecer la diferencia entre promedios.

Las desventajas siguen siendo que se requiere saber el volumen total del líquido amniótico del cual depende la determinación de las concentraciones de los fosfolípidos totales y por otro lado que cuando los valores caen en la zona intermedia, sigue siendo preferible medir la relación L/E.

Fencel M. y cols., en 1975 (36), hicieron un estudio que trata de correlacionar el cortisol total en el líquido amniótico y la maduración pulmonar fetal, basándose en observaciones experimentales y clínicas que sugieren que los glucocorticoides tienen un importante papel en el proceso normal de maduración del pulmón del feto, tratando de determinar también si el proceso de maduración pulmonar fetal se halla asociado con cambios en el cortisol del líquido amniótico, efectuando medidas del mismo por métodos de radioinmunoensayo, a diferentes etapas de la gestación y midiendo también la relación L/E, mejor índice establecido para determinar la maduración pulmonar fetal. Encontraron que existe un gran incremento en el cortisol total del líquido amniótico después de la trigésima cuarta semana de gestación, ocurriendo un incremento similar en la sangre del cordón umbilical alrededor de la trigésima ~~sexta~~ sexta semana de gestación, con niveles mayores de -

cortisol en la arteria que en la vena umbilical. Esto refleja un incremento en la producción de cortisol por la glándula adrenal del feto que podría ser el responsable de la inducción del proceso de madurez fetal. En aquellos recién nacidos en donde los niveles de cortisol en sangre de cordón son elevados no se presenta SDR y sus resultados muestran que los valores del cortisol total a través del embarazo normal cuando se encuentran en la semana 20 o menos, el promedio es de  $30 \pm 2$  ng/ml,  $\bar{x} \pm$  E.S. y no existe diferencia significativa con respecto al promedio de  $31.8 \pm 1.5$  ng/ml,  $\bar{x} \pm$  E.S. para el rango que toma en cuenta de la semana 20 a la 34 ava. de gestación, con una  $p < 0.4$ . Después de la 34 ava. semana de gestación todos los valores de cortisol fueron mayores de 40 ng/ml encontrándose que el grupo de 35 a 40 semanas, con  $72.4 \pm 3.8$  ng/ml,  $\bar{x}$  E.S. fue 2.4 veces más alto que el observado para el grupo de menos de 35 semanas, con un  $p < 0.001$ .

Los niveles de cortisol observados hasta una edad gestacional mayor de las 40 semanas, se mantuvieron elevados y el valor promedio de  $139 \pm 12$  ng/ml (E.S.) fue 1.8 veces mayor que el del período de 35 a 40 semanas de gestación con una  $p < 0.001$  y 4.5 veces más alto que el valor obtenido para embarazos de menor edad gestacional. Los valores más altos de 120 ng/ml no se observaron en embarazos antes del término, pero si se obtuvieron en 6 de 9 pacientes cuyos embarazos sobrepasaron las 40 semanas.

La asociación entre los valores del cortisol y las relaciones L/E tuvo un coeficiente de correlación altamente significativo de  $r = 0.83$ , con una  $p < 0.001$ .

Hallman y Kulovich en 1976 (5), estudiaron más a fondo la composición de los fosfolípidos del líquido amniótico encontrando que de estos la lecitina tensoactiva forma el 80 %. Dentro de estos compuestos y que contribuyen en menor cantidad están: el fosfatidil inositol, fosfatidil glicerol, fosfatidil etanolamina, esfingomielina y fosfatidil serina. El fosfolípido que contribuye en segundo lugar a la formación de agente tensoactivo es el fosfatidil glicerol (FG), que corresponde al 16 % del total de fosfolípidos tensoactivos en el humano adulto.

Al efectuar estudios en animales de experimentación como conejos y monos Rhesus encontraron inicialmente al fosfatidil inositol en las primeras determinaciones efectuadas en gestaciones tempranas y a medida que avanzaba la edad gestacional tiende a aumentar hasta que aparece el fosfatidil glicerol, el cual se incrementa al término del embarazo, mientras que el fosfatidil inositol sufre una disminución. Este hallazgo junto con la determinación de la relación L/E sirvió para determinar el desarrollo de las vías metabólicas de los fosfolípidos tensoactivos en el pulmón del ser humano.

El método utilizado para la determinación de estas sustancias es una sencilla modificación del método inicial para la relación L/E por cromatografía en capa fina efectuando solamente una cromatografía bidimensional que permite

una mejor separación entre todas estas fracciones de fosfolípidos. La importancia de este descubrimiento radica en que - tanto el fosfatidil inositol como el fosfatidil glicerol, son sustancias que tienen como fuente de producción el pulmón fetal, ya que es en este sitio donde se encuentra la mayor actividad metabólica en la síntesis de estos productos tensoactivos. La presente evidencia sugiere que el fosfatidil glicerol interviene marcadamente en la función del agente tensoactivo pulmonar para estabilizar la membrana alveolar, y que es necesaria su determinación debido al elevado índice predictivo en el diagnóstico de un probable síndrome de insuficiencia respiratoria en un recién nacido prematuro.

Bustos y Kulovich et al. en 1979 (37), estudiaron - la influencia que tienen los padecimientos maternos sobre la maduración pulmonar fetal en los embarazos complicados o - conocidos como de alto riesgo, y puesto que la determinación de la relación L/E que es un procedimiento ampliamente usado para el diagnóstico de madurez pulmonar, sólo tiene una buena correlación en embarazos normales, concluyeron que había factores dependientes de las condiciones maternas, fetales o placentarias que aceleraban o retardaban la maduración de estos productos.

Ellos encontraron que los factores que pueden alterar la producción del tensoactivo pulmonar son: diabetes materna, enfermedad vascular, ruptura prematura de membranas, - retardo en el crecimiento fetal, enfermedad hemolítica severa, drogas terapéuticas materno-fetales, etc.

Se determinaron los componentes menores del factor tensoactivo como el fosfatidil glicerol, fosfatidil inositol, fosfatidil etanolamina y fosfatidil serina, utilizando el método de cromatografía en capa fina bidimensional y cuantificando por densitometría, calculando los porcentajes de cada fracción.

Los resultados obtenidos tanto en muestras de conejos como en humanos revelaron que el fosfatidil glicerol estuvo ausente en fetos de pretérmino, mientras que el fosfatidil inositol, se encontraba aumentado; en el embarazo humano aparece el fosfatidil glicerol hacia la semana 36 y en animales de experimentación como el conejo, aparece al término del embarazo al mismo tiempo que se observaba una disminución en la concentración del fosfatidil inositol. Se encontró también que el fosfatidil glicerol es el fosfolípido más abundante -- después de la lecitina al término del embarazo y parece actuar estabilizando a esta sustancia en este sistema tensoactivo y no se encuentra en muestras de aspirado traqueal de recién nacidos con síndrome de dificultad respiratoria.

Este estudio confirma los reportes de Hallman y cols. (5), acerca del comportamiento del fosfatidil inositol y el fosfatidil glicerol en el líquido amniótico humano durante el último trimestre en embarazos normales. Aunque la función del fosfatidil glicerol no es enteramente clara, se supone que su presencia en el tensoactivo pulmonar estabiliza el alvéolo, probablemente por estabilizar a la lecitina. No se encontró ningún caso tanto en embarazos no complicados co-

mo en complicados donde estuviera presente el fosfatidil glicerol y los neonatos desarrollaran síndrome de dificultad respiratoria.

Sin embargo la ausencia de fosfatidil glicerol no necesariamente significa que el síndrome de dificultad respiratoria sea inevitable.

Los resultados de estos estudios proporcionan una evidencia más clara de que la maduración pulmonar en condiciones anormales materno-placentarias y/o fetales es independiente de la edad gestacional. El método descrito por cromatografía en capa fina bidimensional permite una buena separación de los diferentes fosfolípidos, por el uso de un solvente diferente para cada separación. Además el fosfatidil glicerol esencialmente se encuentra sólo en el tensoactivo, fuera de cantidades minúsculas en las mitocondrias. Ya que el fosfatidil glicerol está virtualmente ausente en sangre, mientras -- que la lecitina y esfingomielina de la misma pueden interferir con las medidas de la relación L/E en muestras hemáticas de líquido amniótico, se puede considerar como un mejor indicador de la madurez pulmonar fetal.

Kulovich y Hallman en 1979 (9), estudiaron el comportamiento y desarrollo de los fosfolípidos tensoactivos a través del último trimestre de embarazo en pacientes no complicadas con padecimientos materno y/o fetales, principalmente aquéllas en donde la indicación para valorar la madurez pulmonar fetal era por las siguientes causas:

- a) Cesáreas anteriores.



- b) Embarazos con fechas gestacionales inciertas
- c) Embarazos siguientes a la suspensión de medicamentos anticonceptivos, antes de que los ciclos menstruales sean normales.
- d) Embarazos en los cuáles no ha sido dado ningún cuidado perinatal y pueda presentarse retardo en el crecimiento intrauterino.
- e) Embarazos donde exista un crecimiento fetal anormal.
- f) Embarazos que de alguna manera se asocian con una variedad de condiciones de alto riesgo que involucran a la madre, feto y placenta.

En este reporte se menciona que el grado de seguridad que se puede obtener utilizando solamente la relación L/E, cuando ésta corresponde a un índice característico de un producto maduro ( $>2$ ), es del 98 %, tratándose de embarazos no complicados, pero se reduce al 54 % de seguridad para predecir el síndrome de dificultad respiratoria cuando el índice cae a valores bajos con productos en transición o inmaduros, y no se puede indicar claramente que tan pronto madurará el pulmón fetal.

El descubrimiento de que existían condiciones asociadas a la impredicción del síndrome de dificultad respiratoria y que un porcentaje significativo de relaciones L/E no predicen el síndrome ni aportan ninguna otra información, sugieren la necesidad de ir más allá en la evaluación de los fosfolípidos tensoactivos del líquido amniótico diferentes a

la lecitina, por su posible papel en la estabilidad del alvéolo pulmonar y el diagnóstico de madurez pulmonar.

La integración del perfil pulmonar en embarazos normales toma en cuenta: la relación L/E, el porcentaje de Lecitina Disaturada, (precipitada en acetona fría), el porcentaje de Fosfoglicerol y el porcentaje de Fosfoinositol, en el líquido amniótico, lo cuál, aumentará tanto la seguridad predictiva en el diagnóstico de laboratorio de madurez pulmonar fetal, como también ampliará la información acerca del desarrollo del pulmón fetal para el clínico que maneja el embarazo.

Las curvas presentadas por los autores se describen como sigue:

Relación L/E.- Se obtiene una curva de regresión líneal derivada de los promedios de las relaciones L/E en líquido amniótico de pacientes libres de condiciones de alto riesgo, como una función de las semanas de gestación, con un coeficiente de correlación de 0.986 y un alto grado de significancia con una  $p < 0.0001$  (Fig. 9).

La Fracción de Lecitina Disaturada.- Se obtiene una curva derivada del promedio de los cambios en los porcentajes de lecitina disaturada precipitada en acetona fría, en -- función de la edad gestacional, con un coeficiente de correlación de 0.948 y una significancia de  $p < 0.0001$ , (fig. 9).

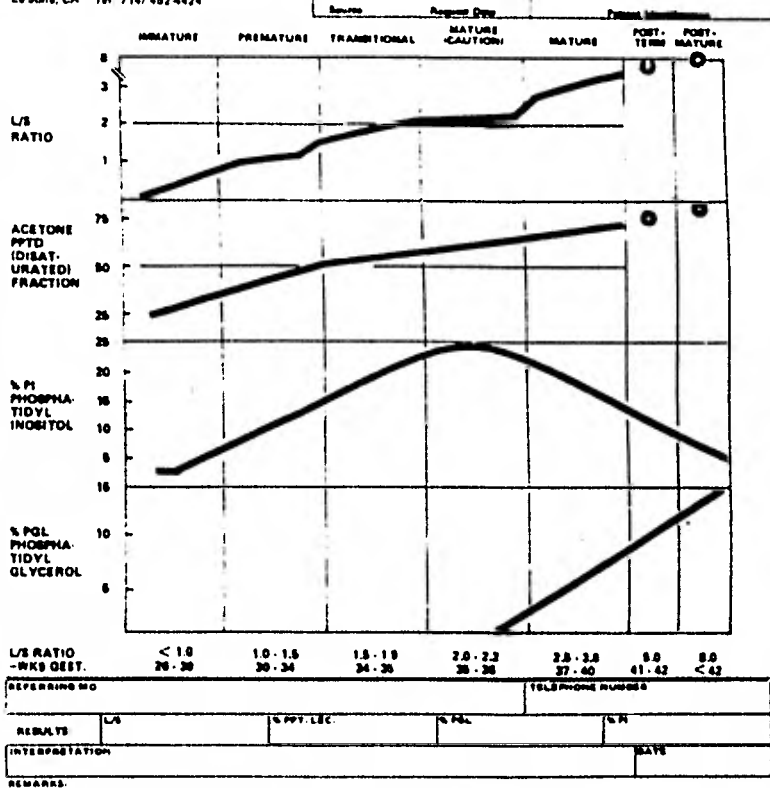
El Porcentaje de Fosfatidil Glicerol.- Se obtiene -- la curva de regresión lineal derivada del promedio de los porcentajes de fosfatidil glicerol en función de las semanas de gestación con un coeficiente de correlación de 0.943 y una --



UNIVERSITY HOSPITAL  
University of California  
Medical Center, San Diego

Mail to  
Louis Gluck, M.D., Director  
Dept. of Pediatrics / C-019  
UCSD, La Jolla, CA 92093

LUNG PROFILE LABORATORY  
Location: Rm. 1125 28 Murri Campus  
University of California, San Diego  
La Jolla, CA Tel: 714/452-4424



Louis Gluck, M.D., Director

© 1977 The Regents of the University of California

Marie E. Gluck  
Chief Personnel Technologist

FIGURA 9

(DRA. KULOVICH)

$p < 0.0001$ , altamente significativa.

El porcentaje de Fosfatidil Inositol.- Los cambios en la concentración de fosfatidil inositol en el líquido amniótico a través de la edad gestacional muestran una elevación en la misma alrededor de la semana 35 y 36, seguido por un declive. En este caso no se efectuó el cálculo del coeficiente de correlación debido al comportamiento de este fosfolípido.

La Dra. Kulovich (9), propone en esta forma un reporte del perfil pulmonar dibujando las cuatro curvas obtenidas en una gráfica: sobre el eje de las ordenadas, los valores correspondientes a cada determinación (relación L/E, Porcentajes de: lecitina precipitable, fosfatidil inositol y -- fosfatidil glicerol). Cuando se grafican los datos de las cuatro resultantes en la determinación de una muestra, se observa que caen con muy alta frecuencia dentro de un grado dado, que entonces se identifica como "estado del desarrollo pulmonar" y que se muestra en la parte superior de la gráfica con los términos de: Inmaduro, Prematuro, Transicional, - Maduro (Precaución), Maduro, Postérmino y Postmaduro (Fig.9)

El término "maduro con precaución", se refiere a las pacientes que cursan con diabetes quienes no podrán ser desembarazadas con mayor seguridad hasta que los valores caigan en el grado de "maduro".

De esta manera se concluye que aún cuando la sola relación L/E puede ser utilizada en embarazos normales, este estudio aporta la determinación de tres componentes más del

tensoactivo, que juntas pueden ayudar a formar un criterio más claro del estado pulmonar fetal. Considerado como "perfil pulmonar", ofrece mayores ventajas sobre la relación L/E sola, y sobre otros procedimientos hasta ahora conocidos para asegurar la madurez del pulmón fetal. Además de proporcionar una información al clínico que lo ayudará a decidir cuando interrumpir un embarazo, o dejarlo continuar y repetir el estudio en los casos necesarios, se tiene la capacidad para detectar y evaluar el embarazo anormal por las alteraciones de los patrones de madurez normalmente esperados -- (10).

C A P I T U L O   V

MATERIAL Y METODO :

Material Biológico.

Método Estadístico.

Técnica de Laboratorio.

## MATERIAL Y METODO.

## MATERIAL BIOLÓGICO Y METODO ESTADÍSTICO (38).

Se estudiaron un total de 171 muestras de líquido - amniótico, obtenidas a través de amniocentesis de 130 pacientes controladas en el Servicio de Medicina Perinatal del C.H. "20 de Noviembre" ISSSTE. Se clasificaron como sigue:

I.- 85 muestras por edad gestacional referida por - fecha de última menstruación en 73 pacientes bien regladas -- sin patología agregada al embarazo, agrupando por semana contra el promedio de valores de cada componente del perfil y -- trazando la línea de mejor ajuste sobre los promedios por el método de mínimos cuadrados.

II.- Un total de 103 muestras se agruparon por frecuencia de aparición de síntomas de Síndrome de Dificultad -- Respiratoria (SDR), en el recién nacido, en 3 niveles:

Nivel 1: SDR severo (inminente muerte neonatal), 8 muestras.

Nivel 2: SDR transitorio estancia menor de 7 días en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN) 10 muestras.

Nivel 3: Sin SDR (sano), 85 muestras.

La indicación de amniocentesis en las pacientes patológicas fué la siguiente:

15 pacientes, por Hipertensión

12 pacientes, por Diabetes Gestacional

10 pacientes, por Isoinmunización a Factor Rh Nega-

tivo.

- 1 paciente, por Embarazo Prolongado.
- 2 pacientes, por Cardiopatía Reumática.
- 1 paciente, por Embarazo Gemelar.
- 2 pacientes, por Hipotiroidismo.

Se tomaron en cuenta solamente aquellas muestras obtenidas y procesadas dentro de los 7 días anteriores a la resolución del embarazo.

Se aplicó una prueba de análisis de varianza (ANOVA) en cada componente del perfil para cada conjunto de datos agrupados por nivel de SDR.

Posteriormente, buscando una correlación significativa entre los valores de los diferentes fosfolípidos y las clasificaciones SDR severo, SDR transitorio y sin SDR y evaluar cuál de estos fosfolípidos podría ser un mejor indicador de la madurez pulmonar y encontrar el valor pronóstico de la prueba, se aplicó el procedimiento Bayesiano (38,39), de reconocimiento de patrones, utilizando las funciones de distribución de frecuencias de cada fosfolípido para cada clase, siendo estas poblaciones las clasificadas con SDR severo y sin SDR las consideradas de importancia. Se utilizó un microprocesador Hewlett-Packard 9820-A; el trabajo gráfico se efectuó con el graficador Hewlett-Packard 9862-A.



TECNICA DE LABORATORIO, DESCRITA POR HALLMAN Y KULOVICH (5,9).  
PARA LA DETERMINACION DE FOSFOLIPIDOS EN EL LIQUIDO AMNIOTICO\*.\*

El líquido amniótico es centrifugado a 3000 rpm -- por 5 minutos para separar fibras y células. Del sobrenadante decantado, se toman 10 ml. a un vaso de precipitado de -- 50 ml.

Se adicionan 10 ml. de metanol y 20 ml. de cloroformo. Se mezcla vigorosamente en agitador magnético por 5 -10 minutos y el contenido se transfiere a un tubo de centrifuga de Nalgen con fondo redondo y capacidad de 50 ml. lavando - las paredes del vaso con pequeñas cantidades de metanol/cloroformo (1-2 ml), lo cual se adiciona a la muestra.

Se centrifuga por 10 minutos a 3 000 rpm; con esto se rompe la emulsión y se separan tres capas claramente: la superior, acuosa; la interfase, proteínas; y la inferior, es la capa clorofórmica que contiene los fosfolípidos extraídos.

Si no hay una clara separación, entonces se añaden de 1-2 ml de metanol, mezclando y centrifugando una vez más, siguiendo el mismo paso anterior.

La capa clorofórmica inferior es transferida a un vaso de precipitado de 50 ml extrayéndola con pipeta Pasteur, procurando que lleve la menor cantidad de agua o proteínas.

Se evapora en baño de agua caliente entre 56 y 60°C y con corriente de Nitrógeno para acelerar la evaporación, - hasta sequedad completa.

La muestra seca se transfiere con lavados de cloro

\*Material y Equipo de Laboratorio: Ver Apéndice

formo (3 ml) a un tubo de centrifuga cónico de 3 ml con tapón esmerilado, y nuevamente se lleva a sequedad completa en baño de agua caliente a 56-60°C y corriente de Nitrógeno. - El extracto concentrado en el fondo del tubo cónico se coloca en baño de hielo y se deja enfriar por 2 minutos, se adicionan 2  $\mu$ l de cloroformo agitando sobre el hielo y 2 gotas de acetona fría (no más de 12°C), con lo cual se observa la formación y se agita en el baño de hielo, (ESTE PASO ES CRUCIAL).

El tubo es centrifugado a 3 000 rpm por 2 minutos, etiquetándolo como "fracción precipitable". El sobrenadante es decantado a otro tubo de centrifuga cónico de 3 ml con tapón esmerilado etiquetado como "fracción soluble", y ambos tubos son evaporados a sequedad en baño de agua caliente y corriente de Nitrógeno.

Determinación por cromatografía en capa fina bidimensional.- A partir de la muestra de 10 ml de líquido amniótico donde se extrajeron los fosfolípidos, son recuperados del extracto contenido en ambos tubos de centrifuga cónicos con exactamente 30  $\mu$ l de cloroformo, tapando el tubo para evitar pérdidas.

Se usan placas de Sílica Gel H, tipo 60 preparadas con una solución de sulfato de amonio al 5 % (acuosa), y activadas a 70°C en estufa, por 30 minutos, enfriando casi a temperatura ambiente y usándola inmediatamente. Sobre la placa, en un extremo (inferior derecho), y a 2 cm de cada

borde, se aplican 15  $\mu$  l del extracto recuperado del tubo etiquetado como "precipitable". En el otro extremo (inferior izquierdo), y también a 2 cm de cada borde se colocan 15  $\mu$  l del extracto etiquetado como "soluble", separando con una línea sobre la sílica una franja para dejar correr esta fracción en una sola dirección, (dibujo). Se coloca la placa en el solvente desarrollador que sigue:

SOLVENTE DESARROLLADOR 1

|               |       |
|---------------|-------|
| Cloroformo    | 65 ml |
| Metanol       | 25 ml |
| Agua          | 4 ml  |
| Acido Acético | 8 ml  |

Se deja correr el cromatograma hasta el borde y -- posteriormente se saca y se deja evaporar el exceso bajo campana y se vuelve a colocar en la estufa a 70°C por 8 minutos exactamente. Se introduce a la otra cámara de cromatografía con el solvente :

SOLVENTE DESARROLLADOR 2

|                        |         |
|------------------------|---------|
| Tetrahidrofurano       | 40 ml   |
| Metilal                | 28.5 ml |
| Metanol                | 7.8 ml  |
| Hidróxido de Amonio 2N | 4.2 ml  |

Se saca, se deja evaporar bajo campana y se revela por calcinación sobre platina caliente (280°C).

NOTA: Si solamente se tienen 1-2 ml de muestra de líquido - amniótico se utilizan cantidades proporcionales de solvente para la extracción y dilución. En este caso se usa la cantidad completa para aplicar en la placa.

Preparación de las Placas de Cromatografía en Capa Fina.- Las placas Pyrex se lavan con Ajax u otro limpiador - en polvo, se enjuagan muy bien y se secan con un lienzo o en la estufa. Sobre servilletas de papel en una mesa, se colocan las placas de vidrio dejando una distancia de 12 cm entre cada una. Se colocan dos capas de cinta adhesiva (testigo) de media pulgada de ancho colocando la mitad de la cinta sobre el borde derecho y el borde izquierdo de la placa; la cinta se pega sobre la mesa en el borde superior para asegurarla y que no resbale.

El espesor de la capa de sílica gel es aproximadamente de 200 micras que representa la profundidad deseada.

En un matraz Erlen-Meyer de 500 ml. se colocan 30 gr. de sílica gel H tipo 60 en polvo, se adicionan lentamente 65 ml. de solución acuosa de sulfato de amonio al 5 %, y se cubre con un parafilm, agitando enérgicamente hasta formar una pasta; si la consistencia de la misma es todavía muy espesa se pueden adicionar porciones de 1 ml hasta que quede como un "catsup". Se agita el matraz hasta que la pasta que de homogénea.

Una banda de la pasta de aproximadamente una pulgada se pone a través del borde superior de la placa preparada.

La pasta se desplaza con una varilla de vidrio re donda de arriba a abajo, sin oprimir la sílica sobre la pla ca, ni girar la varilla, hasta conseguir una capa extendi da uniforme y homogénea.

Con un sólo movimiento rápido se desplaza de la - placa y el exceso puede regresarse al matraz. Cuando se -- termina de poner la sílica a todas las placas, se retira de la cinta la sílica gel sobrante con una espátula y se despega la cinta de las placas; se colocan entonces en una repisa y se dejan secar toda la noche. Deben ser activadas a - 70°C por 30 minutos para su uso.

Las placas pueden guardarse en gabinetes con deseca dor después de su activación ó pueden ser activadas antes de usarse. Este método para preparar las placas es barato y práctico.

Para eliminar fuentes de error:

- 1.- Cuando el compuesto viaja mucho más alto que los valores usuales de Rf:
  - a) Cambiar el primer solvente.
  - b) Checar la temperatura de la estufa cuando se - activan las placas (70 - 100°C)
- 2.- Si la capa de sílica gel hace burbujas al poner la sobre la platina caliente para calcinar:
  - a) La placa fue dejada fuera del horno mucho tiem po durante la aplicación de la muestra.
- 3.- Cuando se barren las manchas.
  - a) La muestra puede contener agua

- b) La muestra puede contener sangre hemolizada.  
 c) La muestra puede estar contaminada fuertemente con meconio.

CALCULOS:

Se calculan los porcentajes de los diferentes fosfolípidos como sigue:

El área total se mide por reflectancia densitométrica de los compuestos de la siguiente manera:

$$\text{Lecitina/esfingomielina} = \text{Relación L/E}$$

Area bajo la curva de cada uno de los fosfolípidos siguientes:

|       |                        |
|-------|------------------------|
|       | Lecitina precipitable  |
|       | Fosfatidil Inositol    |
| +     | Fosfatidil Glicerol    |
|       | Fosfatidil Serina      |
|       | Fosfatidil Etanolamina |
| <hr/> |                        |
|       | TOTAL - 100 %          |
|       | c/u - X %              |

En seguida: Area bajo la curva de:

|       |                       |
|-------|-----------------------|
|       | Lecitina precipitable |
| +     | Lecitina soluble      |
| <hr/> |                       |
|       | TOTAL - 100 %         |
|       | Lec. prec. - X %      |

Se reporta:                    Relación L/E  
                                  % de Lecitina precipitable  
                                  % de Fosfatidil Glicerol  
                                  % de Fosfatidil Inositol.

NOTA: Las formas de reporte se anexan en las páginas siguien  
tes.

1 5 5 5 Y E  
C H "20 DE NOVIEMBRE"

AMNIOCENTESIS

NOMBRE \_\_\_\_\_  
EDAD   GESTA   PARA  CES   AB   MF   MM   
FECHA ESTUDIO \_\_\_\_\_ AMENORREA  SEM \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_  
F U M \_\_\_\_\_ MEDICO \_\_\_\_\_

MOTIVO DE ESTUDIO \_\_\_\_\_  
LOCALIZACION PLACENTARIA US  RADIOISOTOPOS  RAYOS X  CLINICA   
LUGAR DE PUNCIÓN SUPRA PUBICA  NUCA  PARTES FETALES  FONDO

Nº DE PUNCIÓNES   
PROFUNDIDAD EN CENTIMETROS    
ASPIRACIÓN DE SANGRE SI  NO  ASPIRACION DE L.A. SI  NO   
CANTIDAD DE L.A. OBTENIDO  ml

CARACTERÍSTICAS DE L.A.  
CLARO TRANSPARENTE  SANGUINOLENTO   
CLARO CON GRUMOS  MECONIAL   
LECHOSO  AMARILLENTO

CENTRIFUGADO DE L.A.  
COLOR DEL SEDIMENTO \_\_\_\_\_

ESTUDIOS REALIZADOS  
CELULAS MARRAJA  % EN 500 CELULAS  
CREATININA  mg x 100 ml  
A. D. O.  ZONA DE LILLEY    
PH   
GLUCOSA  mg x 100 ml  
GABES  P CO<sub>2</sub>   
ALFA FETO PROTEINA   
RELACION L/E   
LETICINA PRECIPITABLE  %  
FOSFOLICEROL  % SI  NO   
FOSFATIDIL INOSITOL  % SI  NO   
FOSFATIDIL ETANOLAMINA  % SI  NO   
OTROS ESTUDIOS \_\_\_\_\_

ADMINISTRACION DE CORTICOIDES SI  NO  DOBIS \_\_\_\_\_ FECHA \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_



$\gamma/E = 0.8$

$p = 268$

PI = NEG

PG = NEG.

PG  
+

PE  
+

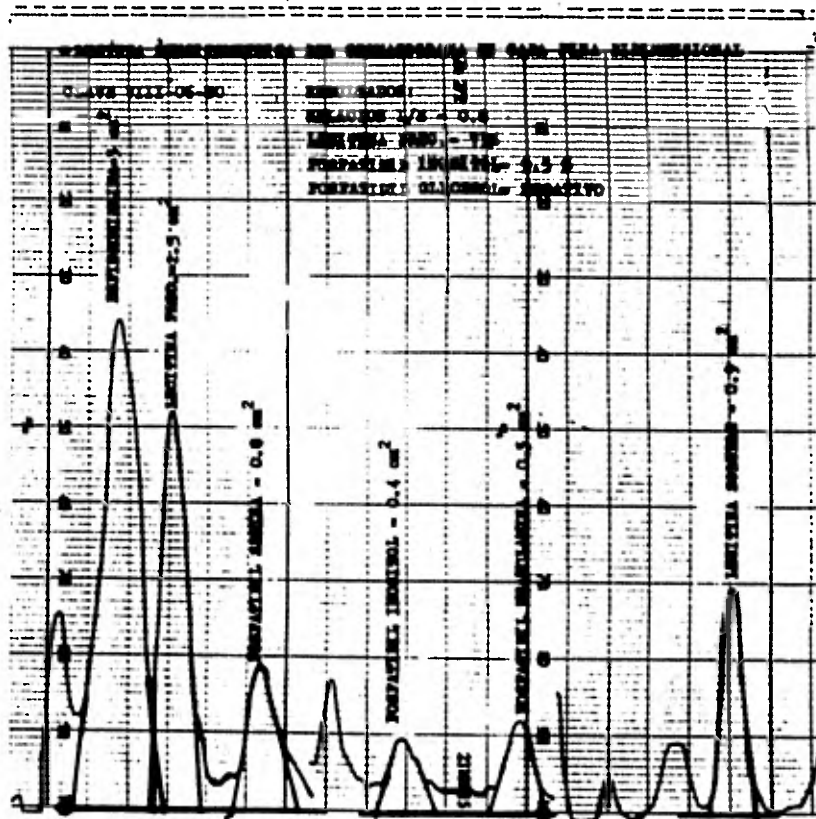
PS  
+

PI  
+

Lp  
+

E  
+

L6  
+



L/E = 2.0

Lp = 54%

PI = 19%

PG = NEG.

PG  
+

PE  
+

PS  
+

Ls  
+

PI  
+

Lp  
+  
E  
+

$L/E = 2.7$

$Lp = 568$

$PI = 198$

$PG = 158$

$L6$   
+

$PG$   
+

$PE$   
+

$PS$   
+

$PI$   
+

$Lp$   
+

$F$   
+

6

LECTURA DENSITOMÉTRICA DEL CROMATOGRAMA EN CAPA FINA  
BIDIMENSIONAL

CLAVE VII-05-00

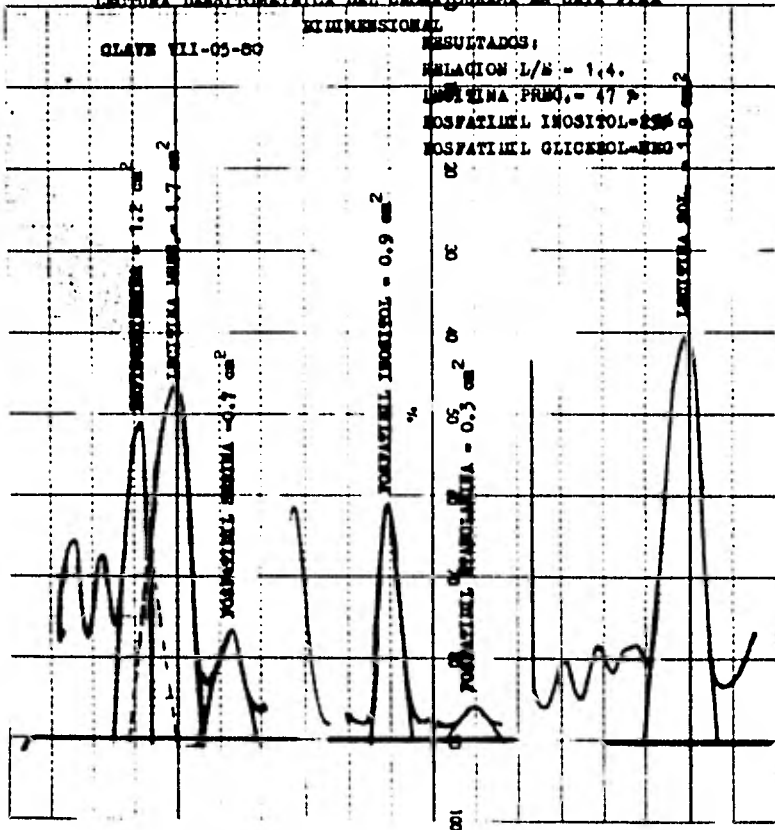
RESULTADOS:

RELACION L/S = 1.4.

LONGITUDINA: PRQ. = 47 P.

FOSFATILIL INOSITOL = 25%

FOSFATILIL GLICEROL = 10%



LECTURA DEL CROMATOGRAMA EN CAPA FINA BIDIMENSIONAL

CLAVE VII-05-00

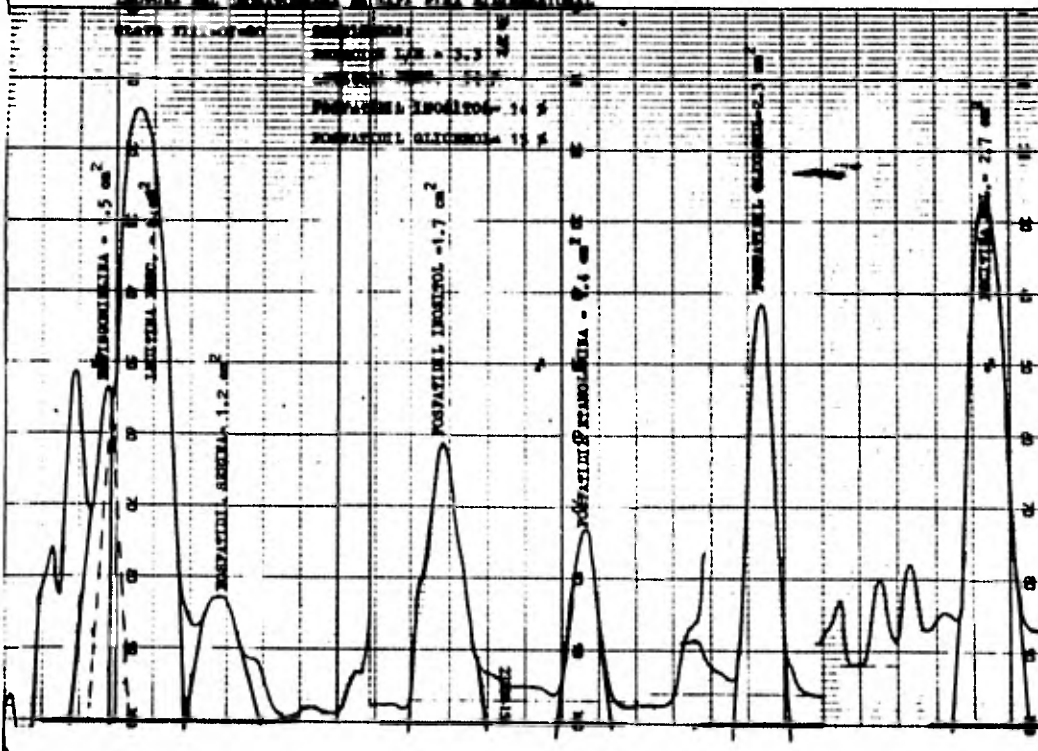
RESULTADOS:

RELACION L/S = 3.3

LONGITUDINA: PRQ. = 51 P.

FOSFATILIL INOSITOL = 14%

FOSFATILIL GLICEROL = 15%



LECTURA DENSITOMETRICA DEL CROMATOGRAMA EN CAPA FINA

TRIDIMENSIONAL

CLAVE VII-05-00

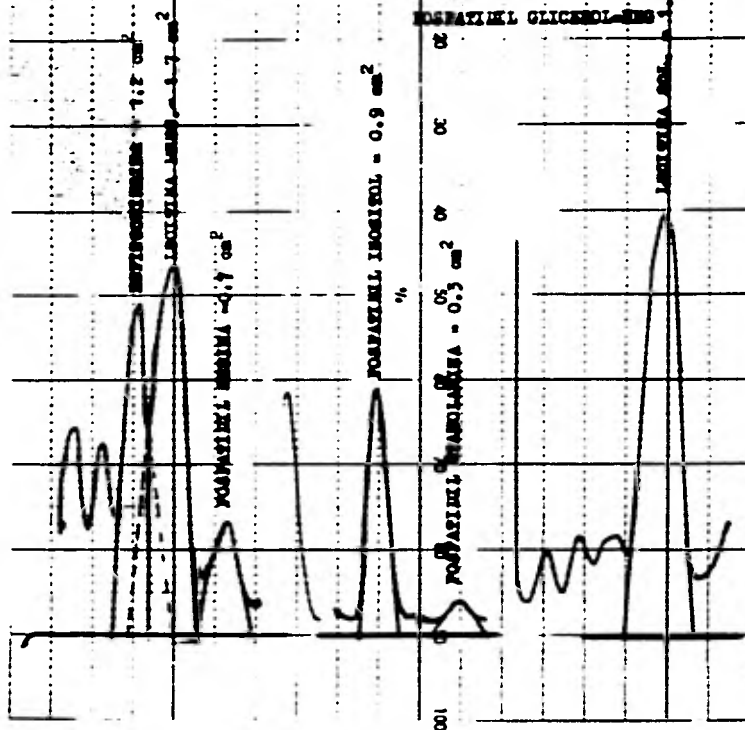
RESULTADOS:

RELACION L/S = 1,4.

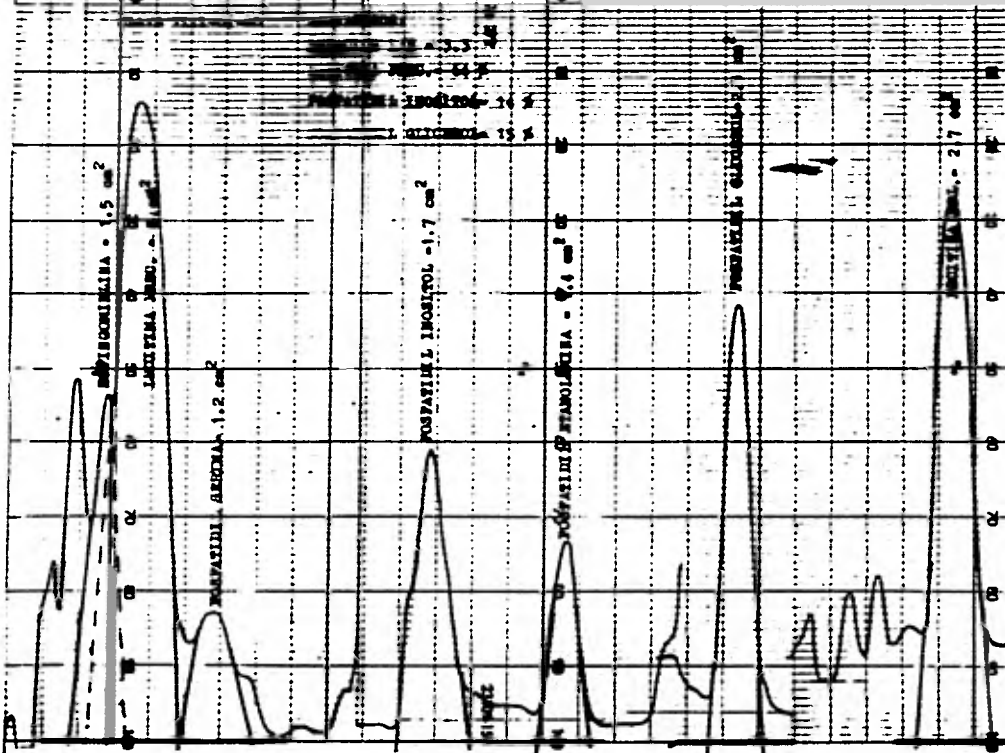
VELOCIDAD FRENTE = 47 P.

POSICIONES INOSITOL = 2,5

POSICIONES GLICEROL = 2,5



LECTURA DEL CROMATOGRAMA EN CAPA FINA TRIDIMENSIONAL



RESULTADOS

1.- Perfil de Fosfolípidos.- Las gráficas 1,2,3, y 4 representan la evaluación de los niveles de fosfolípidos a través de las semanas de gestación en embarazos no complicados. Los valores medios de cada semana fueron utilizados para el cálculo de la línea de regresión polinomial de mejor ajuste por mínimos cuadrados y graficados los resultados junto con las curvas del Perfil Pulmonar reportadas por la Dra. Kulovich. Los resultados muestran una estrecha correlación en todos los casos a excepción hecha del Fosfatidil Inositol; esto, puede suponerse que es debido al error en la lectura dado que la mancha de fosfatidil inositol en el cromatograma es la única que aparece grande y difusa, lo que dificulta delimitarla con el tipo de cromatógrafo utilizado.

Debe hacerse notar que el descenso predicho por -- las curvas de regresión lineal en los casos de Fosfatidil Inositol y la relación L/E, a partir de la semana 40 son resultados matemáticos del modelo de regresión utilizado y no deberán interpretarse como el comportamiento predictor de los fosfolípidos; esto es, los modelos de regresión empleados -- dan una buena descripción entre las semanas 32 a 40 de gestación.

En los casos del Fosfatidil Glicerol y la Lecitina Precipitable se emplearon modelos de regresión de 1er. grado dada la gran variabilidad de los datos. Las pruebas de significancia utilizadas buscando diferencias respecto a los -- reportes antes mencionados fueron en todos los casos negati-



vas. Esto significa que aunque las líneas de regresión comparadas son distintas tanto en la pendiente como en la ordenada al origen, estas diferencias son atribuibles a la variabilidad de los datos.

Las gráficas 5, 6, 7 y 8, representan los mismos datos de las anteriores con una distinta agrupación y además se ha incluido el parámetro de desvió estándar como estimación de la variabilidad de los datos.

Con el objeto de determinar si existía una diferencia significativa entre los niveles de cada fosfolípido a través de edad gestacional, se agruparon los datos por periodos de semanas de gestación en:  $\leq 32$ , 33-34, 35-36, 37-41 y  $\geq 42$ . No se encontró diferencia significativa entre los grupos debido a la gran variabilidad de los datos, a excepción de fosfatidil glicerol donde se observa un cambio brusco entre el periodo comprendido de las semanas 33-34 y 35-36.

Puede observarse que los valores para la semana 32 o menores (gráficas), difieren notablemente del comportamiento esperado. Aún cuando se mantiene la tendencia de aumentar estos valores progresivamente a medida que avanza la gestación, no guardan una buena correlación con semanas de embarazo en los casos estudiados, lo cuál puede deberse a que existen múltiples factores que aumentan o disminuyen su producción y a la posible contaminación de las muestras o a una errónea estimación de la edad gestacional, que aunado al hecho de tener pocos datos agrupados en esas semanas provocaron --

una modificación apreciable.

Además existe la consideración de que la población estudiada no puede llenar estrictamente los requisitos de -- normalidad.

2.- Análisis de Varianza (ANOVA).- Con respecto a los datos agrupados por estado del neonato al nacimiento, se presentan los resultados de los análisis de varianza, en las Tablas No. 1 y No. 2 y su representación en las gráficas --- Nos. 9, 10, 11 y 12.

Puede observarse que el valor de significación más elevado en las pruebas de análisis de varianza correspondieron al fosfatidil glicerol lo cual es consecuencia de una -- gran separación de los niveles encontrados en los pacientes clasificados como SDR severo y sin SDR.

Sobre el índice L/E y la lecitina fracción precipi-- table las diferencias encontradas entre los niveles no fue-- ron altamente significativas, pero sí se observa una marcada tendencia a aumentar los promedios de valores obtenidos en -- relación al nivel en que fueron agrupados.

En el caso del fosfatidil inositol el análisis de varianza fue negativo, esto se explica puesto que este fosfo-- lípido tiene inicialmente un ascenso seguido por un descenso con la misma pendiente, lo que hace difícil interpretar la madurez fetal ya que los valores se encuentran entremezcla-- dos. Sin embargo, su valor relativo a la presencia o ausen-- cia del fosfatidil glicerol nos puede señalar en que etapa de

maduración fisiológica se encuentra el pulmón fetal.

3.- Análisis Bayesiano.- El Teorema de Bayes (38), establece la necesidad de conocer las funciones de distribución de los datos estudiados para poder efectuar el cálculo de las curvas de probabilidad. Al aplicar este procedimiento en este caso para la obtención de las probabilidades de desarrollar SDR en base a la información obtenida de los fosfolípidos se procedió a estimar las funciones de distribución de probabilidades de cada uno de ellos para lo cual se construyeron los histogramas correspondientes. Los resultados encontrados en esta etapa fueron los siguientes:

a) Para la Relación L/E y la Lecitina Precipitable las distribuciones fueron evidentemente normales por lo que la media y el desvío estándar estimados fueron suficientes para describirlos.

b) El fosfatidil glicerol no presentaba características de normalidad en ninguna de las clases por lo que fué necesario desarrollar un modelo de distribución, que en el caso de la clase SDR severo, resultó ser una función exponencial del tipo:  $f(t) = \theta e^{-\theta t}$ , y en el caso de la clase sin SDR (normal), se aproximó por medio de una regresión polinomial de 6º grado, que se obtuvo calculando la derivada resultante de la integral de los porcentajes de frecuencia relativa. Figs. 13 y 14.

c) La clase considerada como SDR transitorio fue eliminada de estos cálculos por considerarse el diagnóstico pediátrico dudoso con respecto a los síntomas clínicos del

SDR, los cuales pueden llegar a confundirse con otros padecimientos, que no están condicionados, a la deficiencia de fosfolipídos, como pueden ser: neumotórax, anemia, aspiración - de líquido amniótico meconial, persistencia de conducto arterioso, complicaciones en el manejo pediátrico, etc.

d) El fosfatidil inositol no fue utilizado en este procedimiento por no existir una diferencia entre las funciones de distribución de las clases con SDR y sin SDR, gráfica 12.

Una vez obtenidas todas las funciones de distribución necesarias se procedió a aplicarles el procedimiento matemático descrito por J.T. Tou y R.C. González (38) obteniéndose los resultados descritos en las gráficas 15, 16, 17 y - 18, en las cuáles se describe la probabilidad de desarrollo de SDR contra los diferentes niveles de los fosfolípidos.

Analizando las curvas de probabilidad se hace evidente que el descenso en la probabilidad de desarrollo de -- SDR, es mucho más marcado sobre la curva de Fosfatidil Glicerol, que en el caso de la relación L/E y la Lecitina Precipitable, esto es un resultado predicho indirectamente en las - pruebas de análisis de varianza.

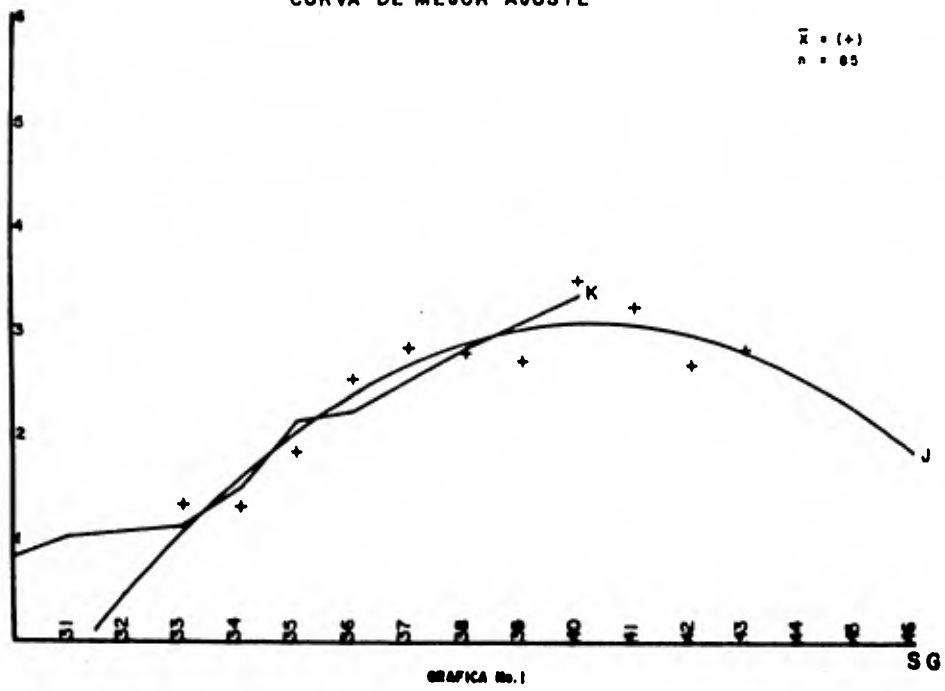
Es importante hacer notar que estos valores dependen de las estimaciones a priori de las funciones de distribución y de la probabilidad de cada una de las clases, por - lo que no deberán tomarse estos valores desde un punto de -- vista determinístico (fijo), sino como una variable aleatoria cuya precisión en la predicción de desarrollar un SDR depen-

de del tamaño de la muestra utilizada y por lo tanto estará sujeta a modificaciones posteriores.

RELACION  
L/E

RELACION L/E VS. SEMANA DE GESTACION  
CURVA DE MEJOR AJUSTE

$\bar{x} = (+)$   
 $n = 85$

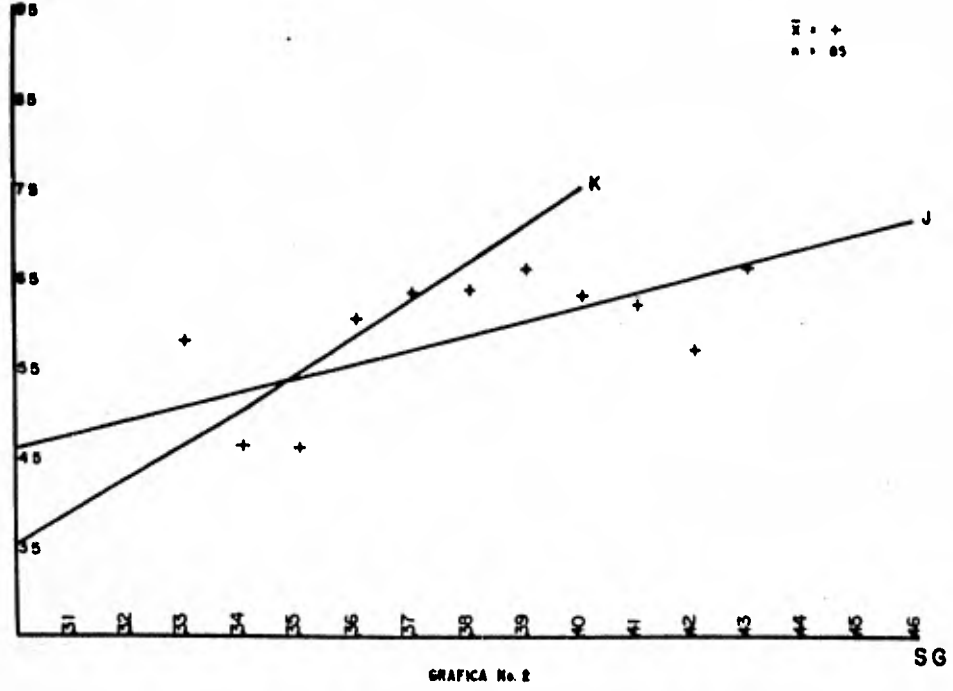


GRAFICA No. 1

%L<sub>p</sub>

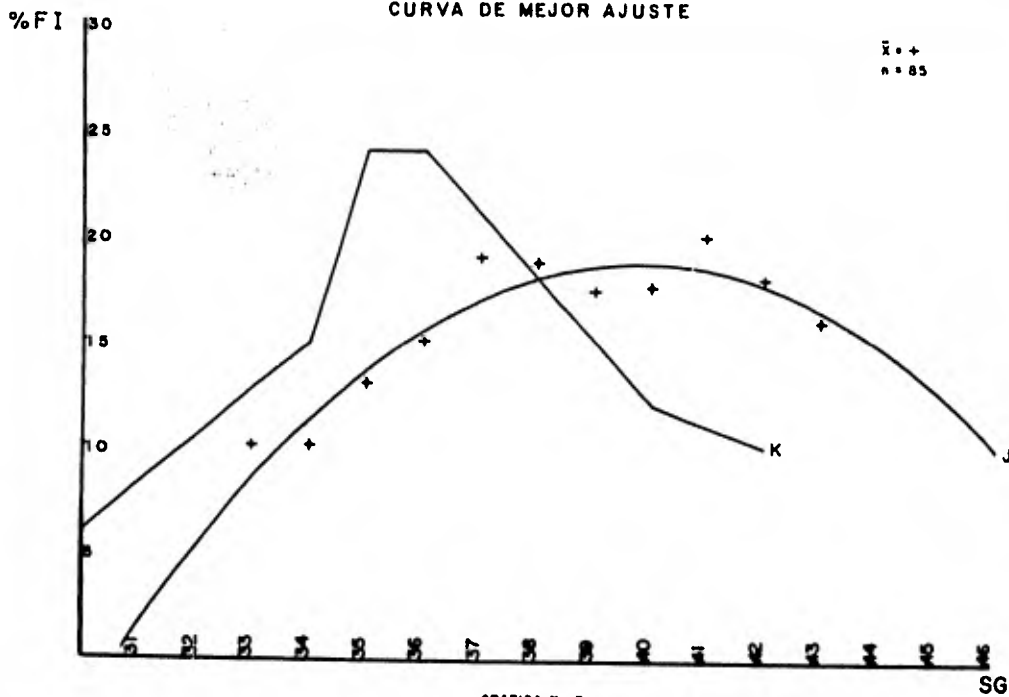
LECITINA PRECIPITABLE VS. SEMANA DE GESTACION  
CURVA DE MEJOR AJUSTE

$\bar{x} = (+)$   
 $n = 85$

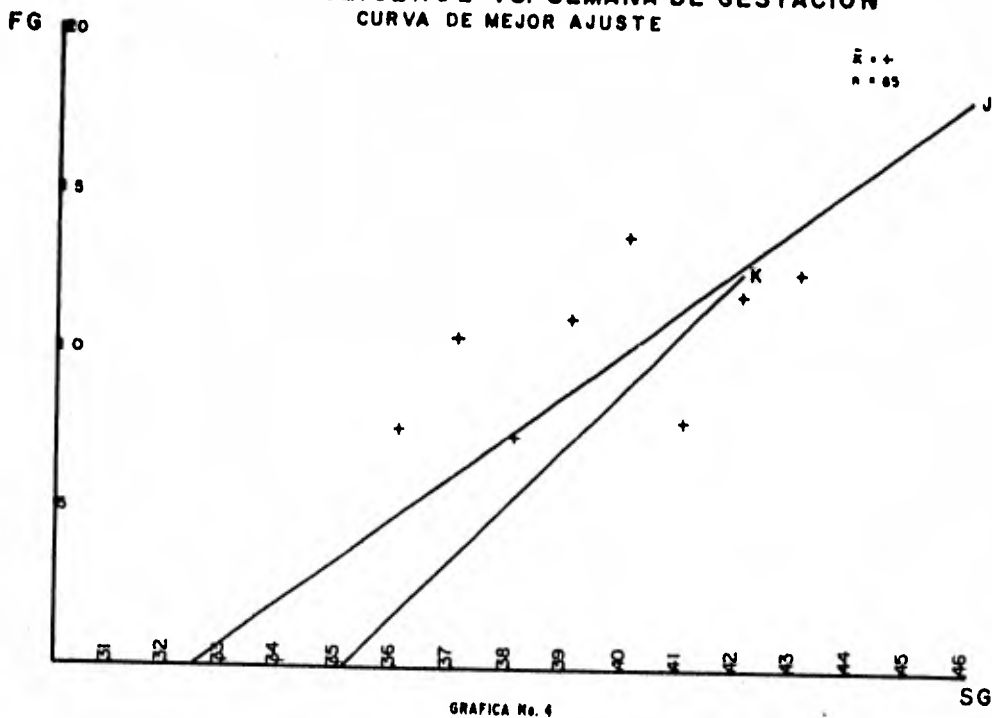


GRAFICA No. 2

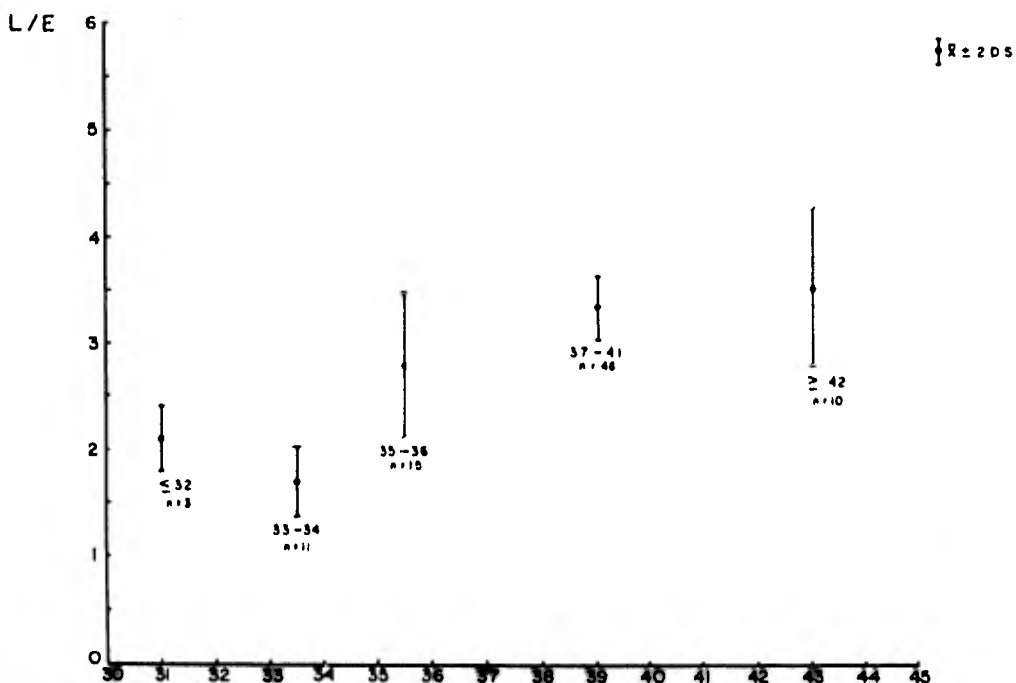
FOSFATIDIL INOSITOL VS. SEMANA DE GESTACION  
CURVA DE MEJOR AJUSTE



FOSFATIDIL GLICEROL VS. SEMANA DE GESTACION  
CURVA DE MEJOR AJUSTE

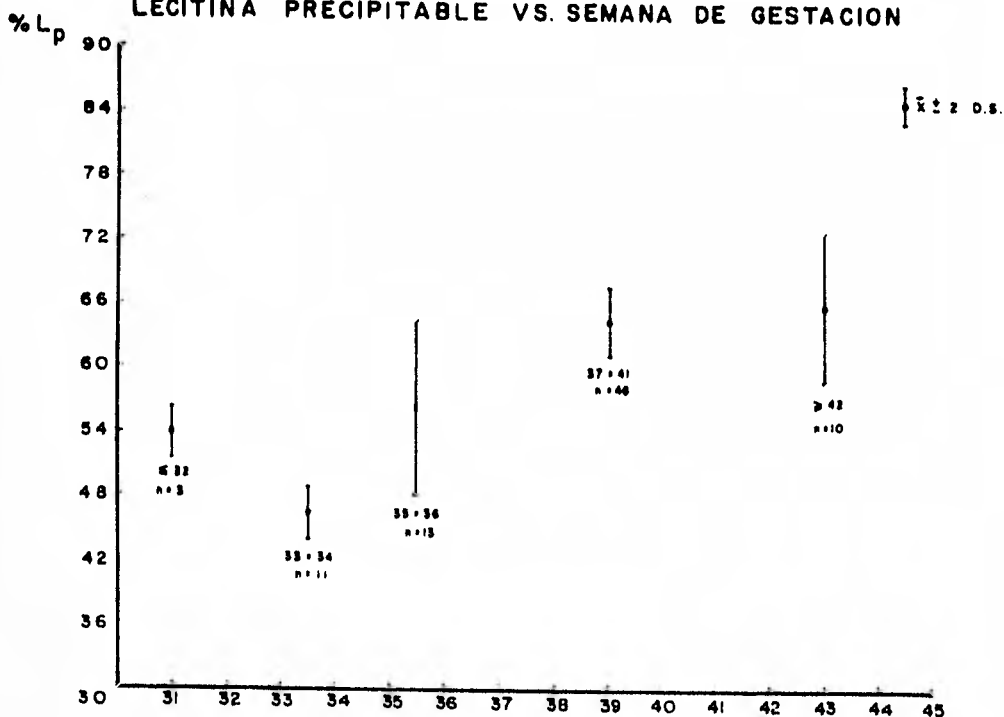


RELACION L/E VS. SEMANA DE GESTACION



GRAFICA No. 5

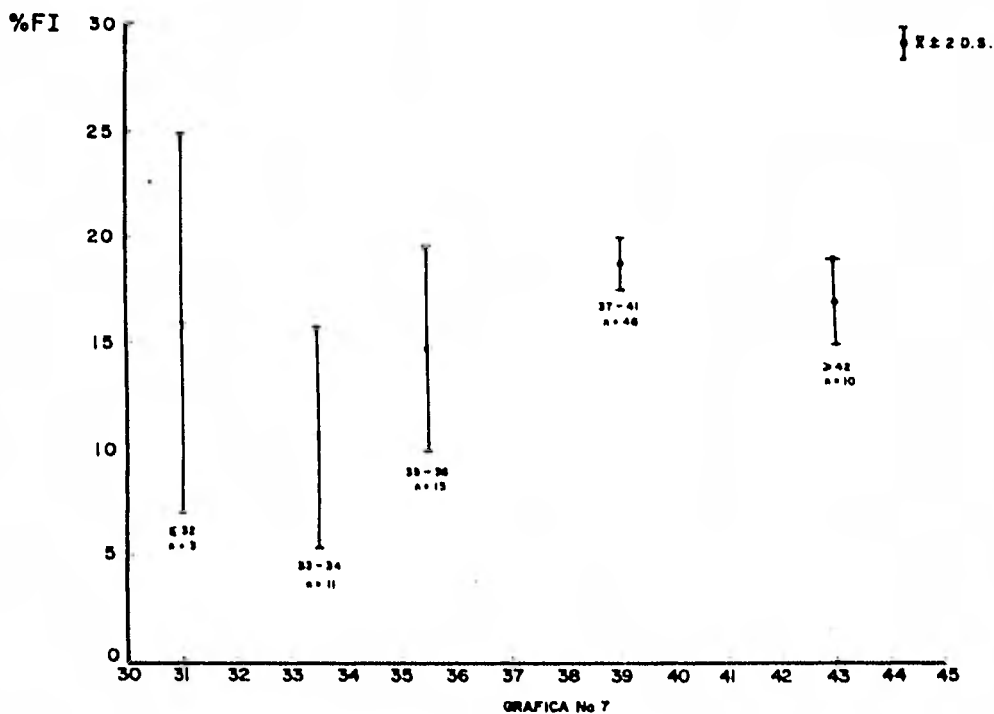
LECITINA PRECIPITABLE VS. SEMANA DE GESTACION



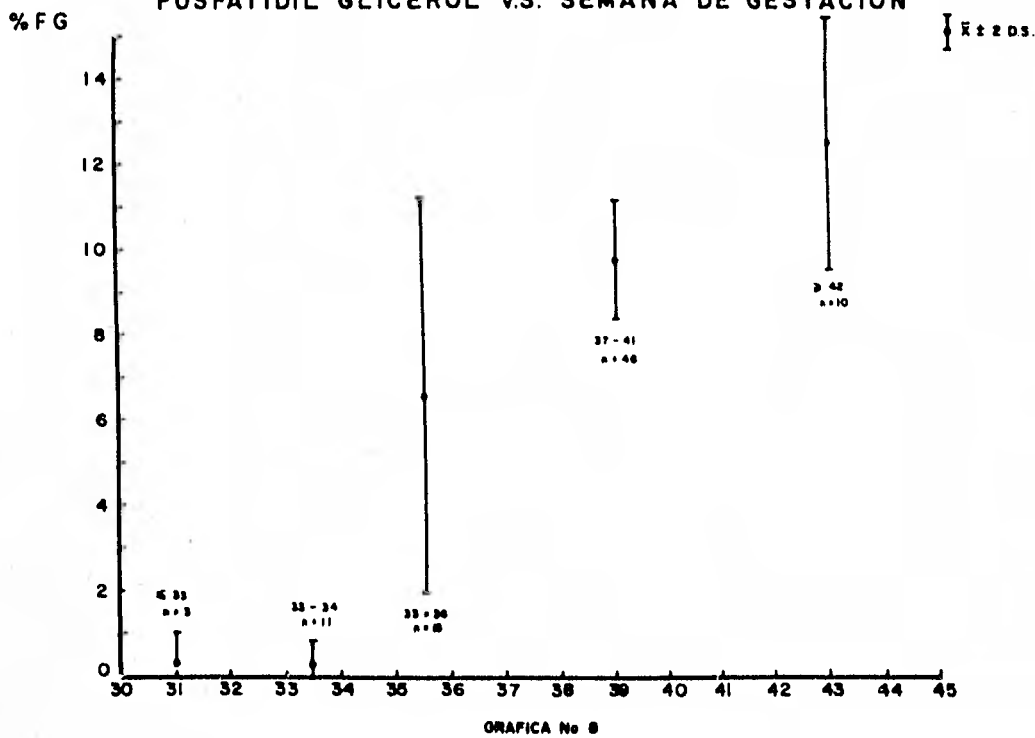
GRAFICA No. 6



### FOSFATIDIL INOSITOL VS. SEMANA DE GESTACION



### FOSFATIDIL GLICEROL VS. SEMANA DE GESTACION



T A B L A No. 1

| RELACION<br>L/E    | n  | $\bar{x}$ | D.E. |
|--------------------|----|-----------|------|
| NIVEL 1<br>SDR s   | 8  | 1.83      | 0.68 |
| NIVEL 2<br>SDR t   | 10 | 2.5       | 0.79 |
| NIVEL 3<br>SIN SDR | 85 | 3.0       | 0.80 |

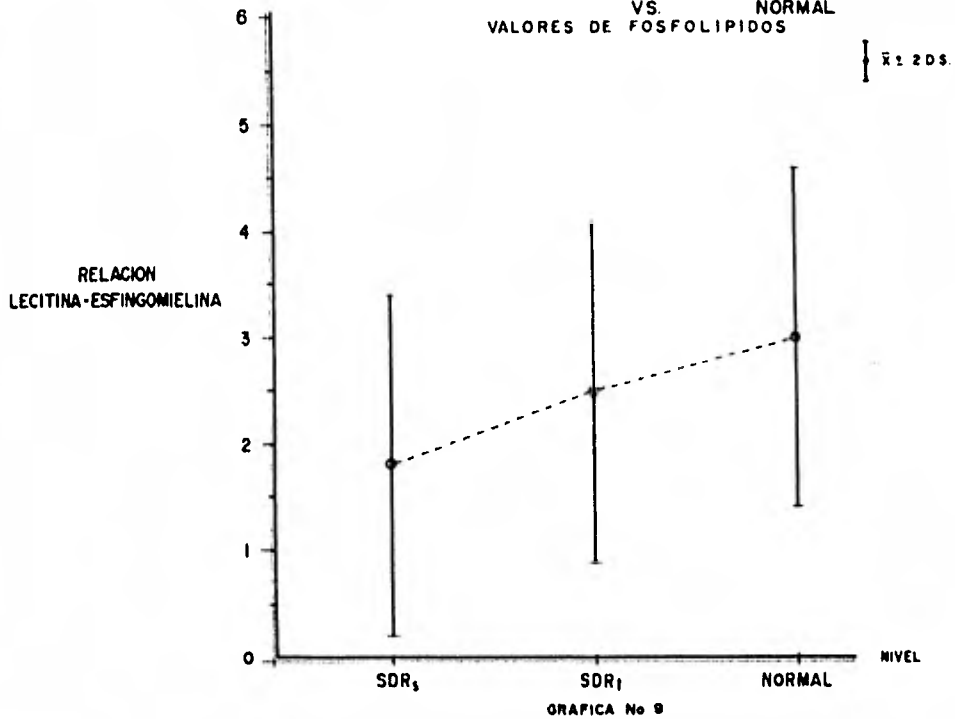
| LECTINA<br>PRECIPITABLE | n  | $\bar{x}$ | D.E. |
|-------------------------|----|-----------|------|
| NIVEL 1<br>SDR s        | 8  | 54        | 8.3  |
| NIVEL 2<br>SDR t        | 10 | 60        | 8.5  |
| NIVEL 3<br>SIN SDR      | 85 | 66        | 9.3  |

T A B L A No. 2

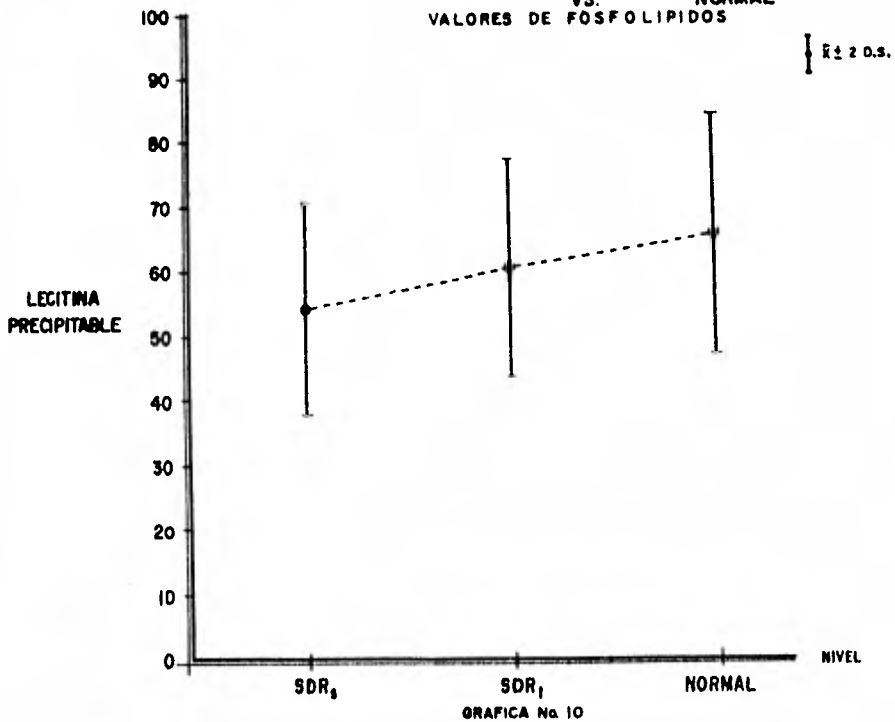
| FOSFATIDIL<br>GLICEROL | n  | $\bar{x}$ | D.E. |
|------------------------|----|-----------|------|
| NIVEL 1<br>SDR s       | 8  | 0.96      | 1.4  |
| NIVEL 2<br>SDR t       | 10 | 9.2       | 6.6  |
| NIVEL 3<br>SIN SDR     | 85 | 11.4      | 4.4  |

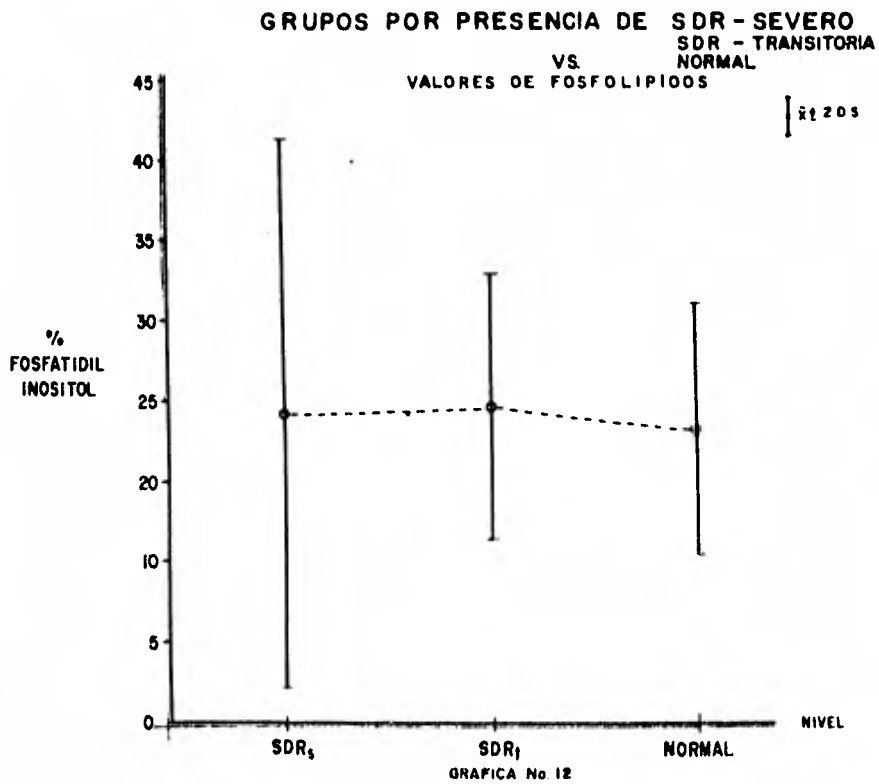
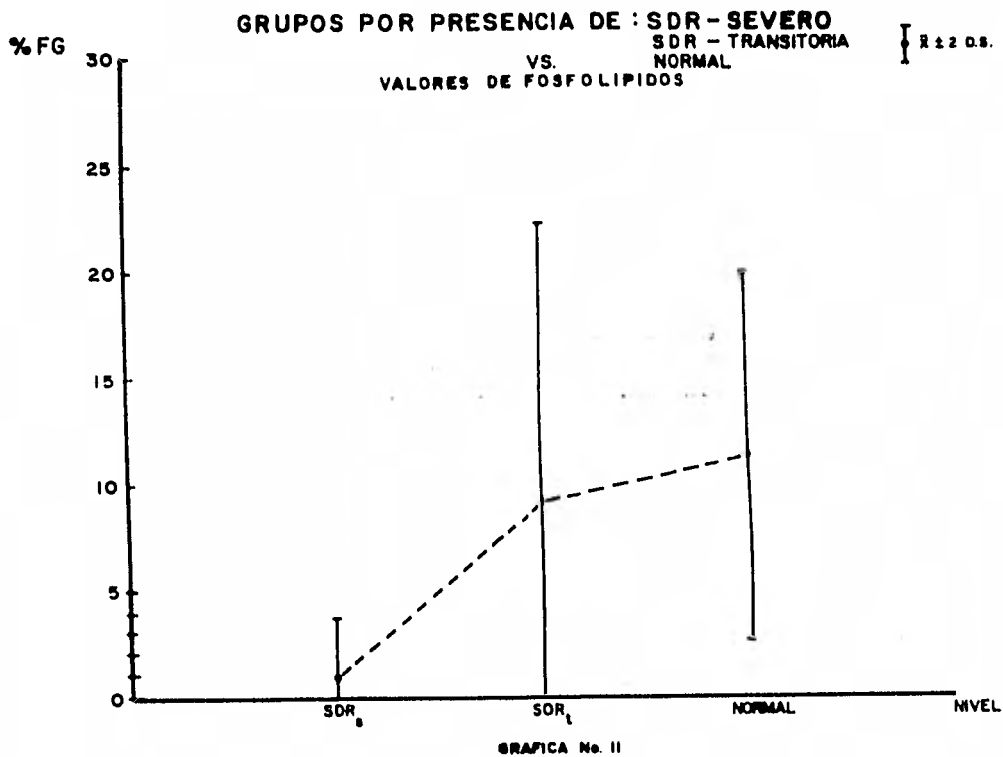
| FOSFATIDIL<br>INOSITOL | n  | $\bar{x}$ | D.E. |
|------------------------|----|-----------|------|
| NIVEL 1<br>SDR s       | 8  | 19.2      | 8.6  |
| NIVEL 2<br>SDR t       | 10 | 19.7      | 4.1  |
| NIVEL 3<br>SIN SDR     | 85 | 18.3      | 3.9  |

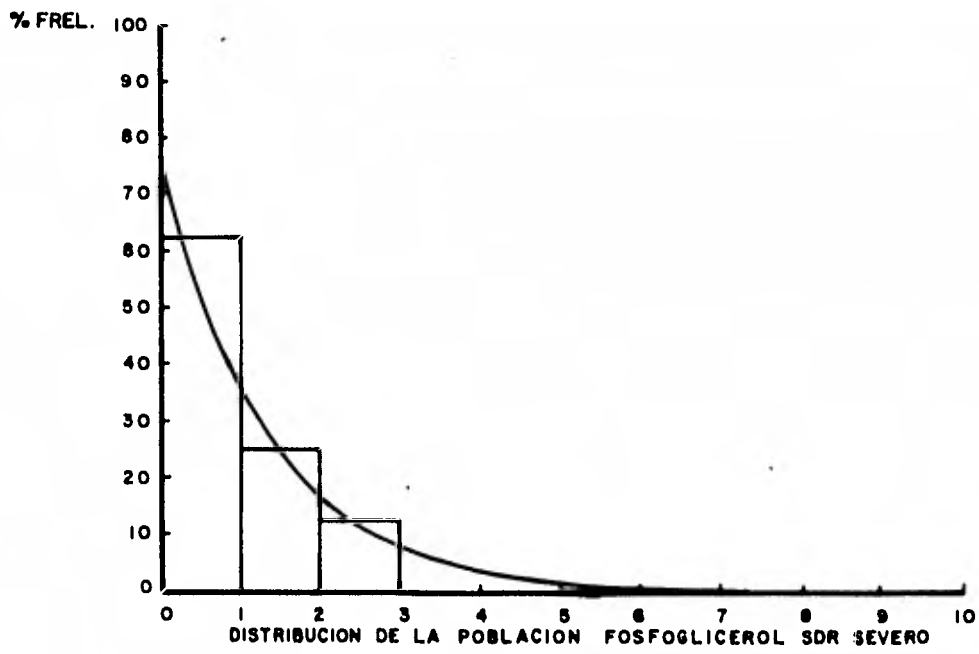
GRUPOS POR PRESENCIA DE : SDR - SEVERO  
 VS. SDR - TRANSITORIA  
 NORMAL  
 VALORES DE FOSFOLIPIDOS



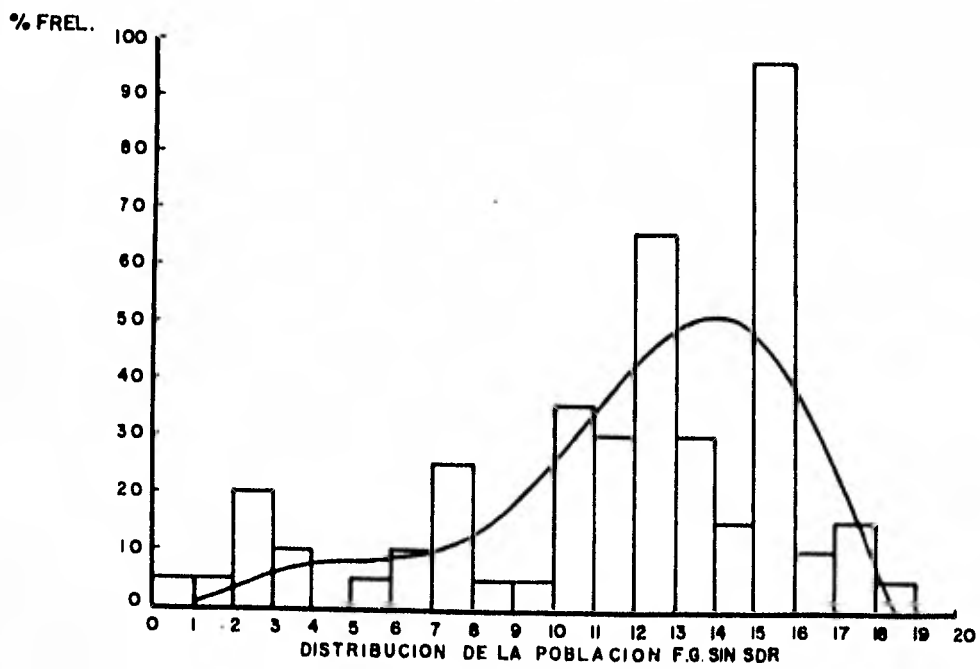
GRUPOS POR PRESENCIA DE : SDR - SEVERO  
 VS. SDR - TRANSITORIA  
 NORMAL  
 VALORES DE FOSFOLIPIDOS



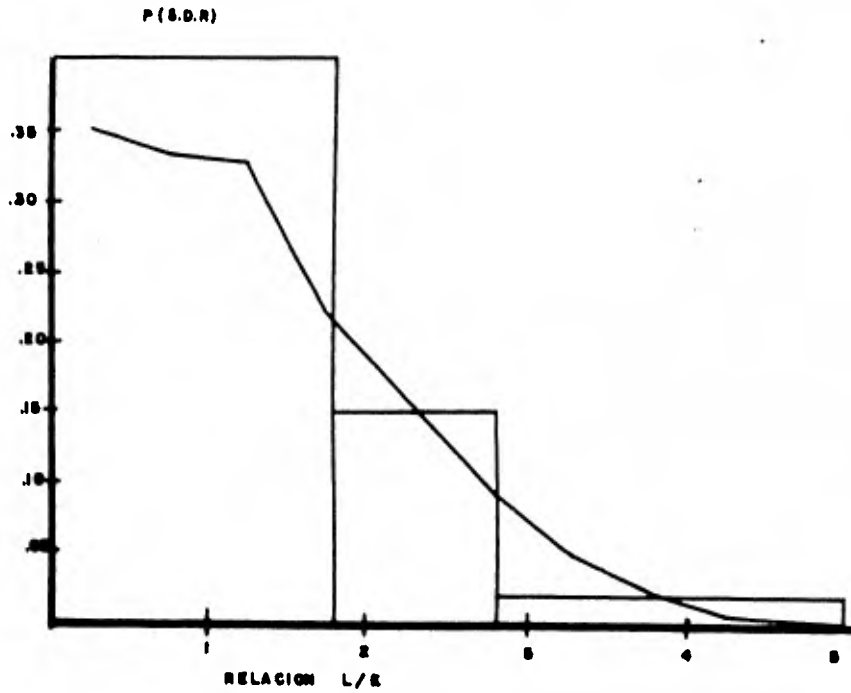




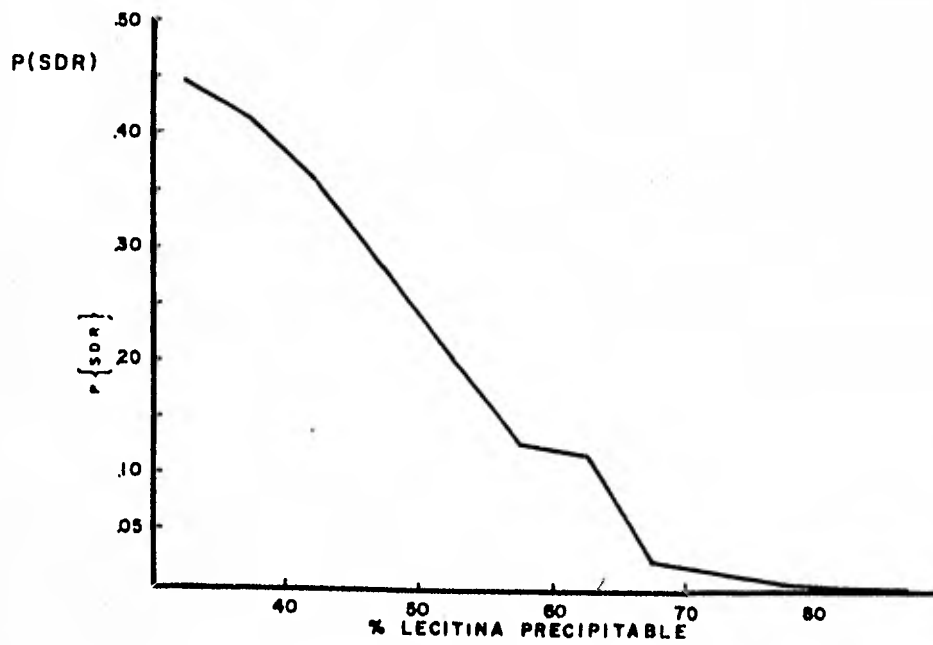
GRAFICA No. 13



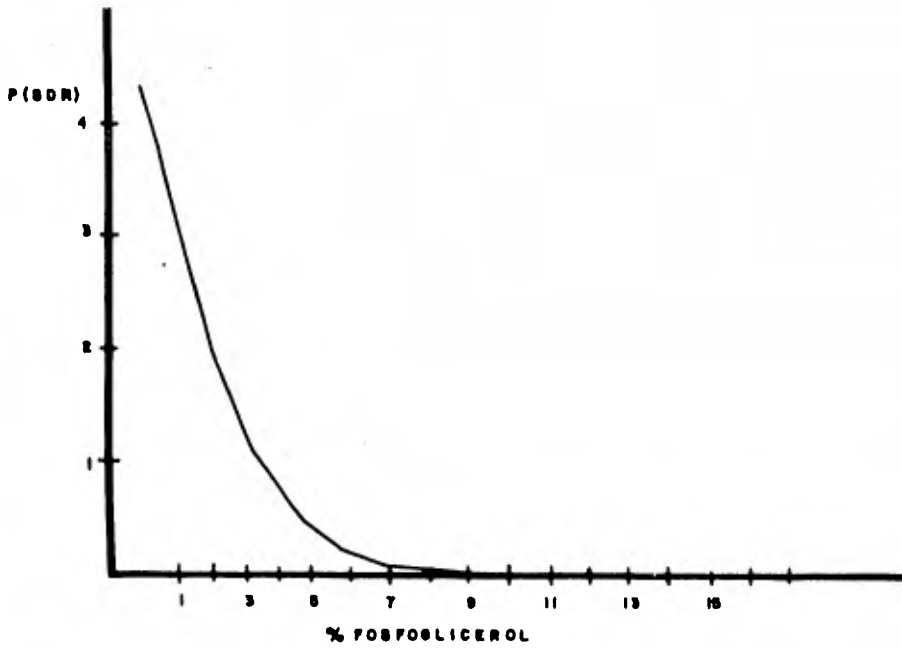
GRAFICA No. 14



GRAFICA No. 15

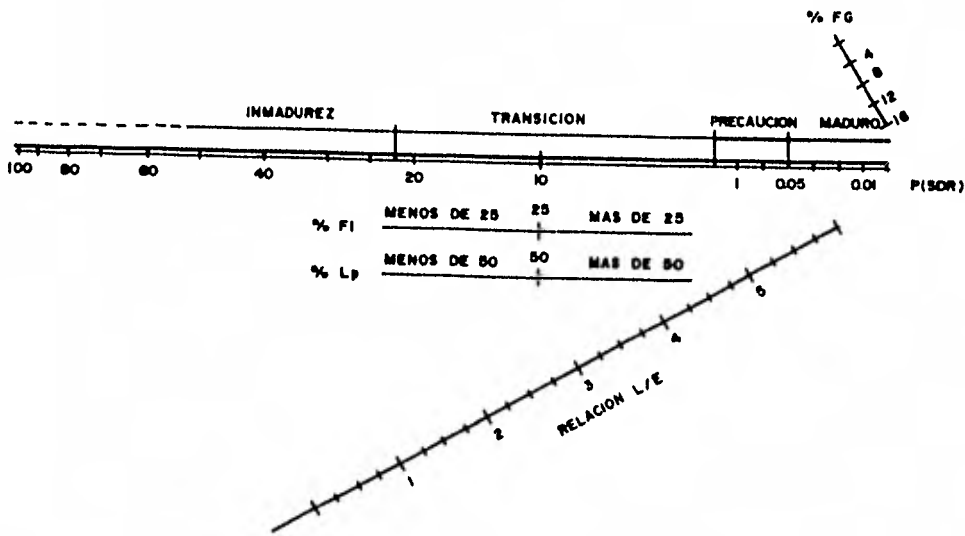


GRAFICA No. 16



GRAFICA No. 17

% PROBABILIDADES DE DESARROLLAR S.D.R.



GRAFICA No. 18



D I S C U S S I O N .

De acuerdo a las consideraciones iniciales que se mencionan como propósito de este trabajo y tomando en cuenta tanto los antecedentes como el desarrollo de la metodología, podemos establecer que los resultados obtenidos nos demuestran que la prueba es un procedimiento eficiente para la determinación de la madurez pulmonar fetal.

La relación L/E que hasta ahora ha sido la prueba más difundida para la valoración de la madurez pulmonar fetal, queda ahora subordinada a la evaluación de los otros componentes del sistema tensoactivo tanto para los embarazos normales como en los embarazos complicados, dado que todos nuestros resultados estadísticos indican que el Fosfatidil Glicerol es el mejor estimador de la madurez pulmonar dentro del conjunto de fosfolípidos considerados.

Con respecto al perfil de estos fosfolípidos y su relación con la edad gestacional agrupados los datos por semana de gestación, es evidente que a pesar de la variabilidad encontrada el hecho de que no se observe diferencia significativa entre las curvas reportadas por la Dra. Kulovich (9) y las nuestras nos indica la fidelidad del método.

Aún así, se comprende la necesidad de reunir más datos para poder obtener un mejor ajuste, además de una disminución en la variabilidad mencionada.

Es también claro que aún en pacientes bien regladas la imprecisión en la fecha de la última menstruación puede introducir errores y no siempre los niveles de fosfolí

pidos corresponde a la edad gestacional referida, sobre todo en embarazos de alto riesgo.

Es por eso que se prefirió utilizar una distinta agrupación de estos datos tomando en cuenta sólo el resultado de cada determinación contra el estado clínico del recién nacido, para calcular el valor pronóstico de la prueba, con lo cual se elimina la posible influencia de los factores ya mencionados como modificadores de la madurez pulmonar fetal.

Una forma tentativa de integrar los resultados obtenidos en el análisis de los componentes de los fosfolípidos del líquido amniótico, con la probabilidad de desarrollar SDR sería el diseño de un monograma que describa la relación de estos compuestos como estimadores de la maduración pulmonar fetal.

Sin embargo, es concluyente que la determinación de los fosfolípidos en el líquido amniótico es un indicador de gran valor para la evaluación de la maduración pulmonar fetal.

CONCLUSIONES

- 1.- El método original de la Dra. Kulovich utilizado en el presente trabajo se considera estable ya que los resultados obtenidos por ambos grupos son comparables.
- 2.- La predictibilidad de la Relación L/E se ve aumentada - por la presencia del Fosfatidil Glicerol en embarazos - complicados y no complicados, sobre todo en la etapa -- transicional de maduración considerada de mayor riesgo de presentar parto pretérmino.
- 3.- El Fosfatidil Inositol no puede usarse como predictor - de la probabilidad de desarrollar SDR, y dado su compor- tamiento se utiliza más bien para establecer la evolu-- ción de la maduración pulmonar a través de edad gesta-- cional y con respecto a la presencia o ausencia del Fos- fatidil Glicerol.
- 4.- Se obtuvo la probabilidad estadística de presentar el -- SDR con la Relación L/E, la Lecitina Disaturada y el -- Fosfatidil Glicerol y se considera este último como el predictor más eficiente dada su alta sensibilidad y es- pecificidad.
- 5.- Es necesario, sin embargo, aumentar el número de datos para obtener un tamaño de muestra adecuado que permita establecer modificaciones que reduzcan el grado de error en la predicción de este síndrome.
- 6.- Se establece el propósito de formular un nomograma que integre las curvas de probabilidad de estos fosfolípi--

dos pulmonares de manera que se visualice en forma clara, -  
accesible y práctica, el valor pronóstico del Perfil de Fo  
lípidos Pulmonares, en el Líquido Amniótico.

## A P E N D I C E

## MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO

## REACTIVOS:

1. Cloroformo, R.A. 6 Espectrogrado-Merck
2. Metanol, R.A. 6 Espectrogrado-Merck
3. Acido Acético Glacial, R.A. 6 Espectrogrado-Merck.
4. Acetona, R.A. - Merck
5. Tetrahidrofurano, R.A. -Merck
- 6.- Metilal, R.A. -Fisher
7. Hidróxido de Amonio, R.A. -Merck
- 8.- Sílica Gel H tipo 60 para cromatografía en capa fina-Merck.
9. Sulfato de Amonio granulado, R.A. -Baker.
10. Tanque de Nitrógeno con válvula de Reducción.

## MATERIAL:

1. Vaso de precipitado de 50 ml.
2. Agitador Magnético
3. Baño de Agua (70°C)
4. Centrífuga Clínica, con capacidad para 3 000 rpm.
5. Tubos de Nalgeno de 50 ml. para centrífuga.
6. Pipetas Pasteur.
7. Bulbo de hule para pipeta Pasteur.
8. Tubos de centrífuga cónicos de 3 ml. con tapón esmerilado, Pyrex
9. Baño de hielo.
10. Microjeringa de Hamilton, de 50  $\mu$ l con dispensador de 1  $\mu$ l. por golpe.

11. Matraz Erlen-Meyer de 500 ml.
12. Placas de vidrio Pyrex de 12 X 12 cm.
13. Cámara de cromatografía de vidrio para placas de 12 X 12 cm o bien de 20 X 20 cm.
14. Platina caliente (Hot Plate) marca Thermolyne para un máximo de 280 °C de temperatura.
15. Horno o estufa a 70°C.
16. Espectrofotómetro, rango visible/ultravioleta, con cabe--zal de medidas densitométricas por reflectancia con registrador marca Carl Zeiss, modelo PMQ-II y Planímetro.



## INDICE DE FIGURAS.

- Fig. 1.- Frecuencia de las clases de recién nacidos en México
- Fig. 2.- Coeficientes de Mortalidad Perinatal.
- Fig. 3.- L-Glicerol-3-fosfato; Esfingosina.
- Fig. 4.- Vía Fosfocolín-transferasa, para la biosíntesis de -  
lecitina
- Fig. 5.- Vía N-metil-transferasa, para la biosíntesis de leci  
tina.
- Fig. 6.- Interrelaciones metabólicas.
- Fig. 7.- Esquema de la Biosíntesis de Fosfolípidos pulmonares.
- Fig. 8.- Relación L/E contra edad gestacional, descrito por -  
Gluck.
- Fig. 9.- Perfil de Fosfolípidos pulmonares, descrito por Ku--  
lovich.
- ESQUEMA I.- Esquema (Teórico) del líquido alveolar y la diná-  
mica molecular.
- ESQUEMA II.- Representación esquemática de la Respiración Perinatal.

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

- 1.- Jurado Garcia E.: Frecuencia e impacto de la prematurez e hipotrofia al nacimiento. Grupo de Estudios del Nacimiento (Gen). Vol. 1, pgs: 4.0-4.4, 1979.
- 2.- Davis P. A., M.D., Stewart M.B.: Low Birth Weight Infants: Neurological Sequelae and Later Intelligence. Br. Med. Bull., Vol. 31, No. 1, pgs.: 85-91, 1975.
- 3.- Gluck L., Kulovich M.V., Borer R.C., Brenner P.H., Anderson G.G., Spellacy W.N.: Diagnosis of the Respiratory Distress Syndrome by Amniocentesis. Am. J. Obstet. Gynec. Vol. 109, No. 3: 440-445, Febr. 1, 1971.
- 4.- Gluck L., Kulovich M.V., Borer R.C., Keidel W.N.: The interpretation and significance of the lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid. Am. J. Obstet. Gynecol. 120: 142, 1976.
- 5.- Hallam M., Kulovich M.V., Kripatrik R.G.: Phosphatidyl inositol (PK), and phosphatidyl glycerol (PG) in amniotic fluid indices of lung maturity. Am. J. Obstet. Gynecol. 125: 613, 1976.
- 6.- Schreyer P.J., Tamir J., Bukowsky J., Weintraub Z., Caspi E.: Amniotic fluid total phospholipids versus lecithin/sphingomyelin ratio in the evaluation of fetal lung maturity Am. J. Obstet. Gynecol. 120, 909, 1974.
- 7.- Freeman R.K., Bateman B.G., Toebelsmann O., Arce J., James I.: Clinical Experience with the Amniotic Fluid Lecithin/ Sphingomyelin Ratio. Am. J. Obstet. Gynec. Vol.119 No. 2: 239-242, Mayor 15, 1974.
- 8.- Jiménez P. L., Jiménez V.J., Rodríguez F.C., Violante M.,

Lowenberg E.: Valor Pronóstico de la Relación L/E: Estudio de 213 casos, VIII Reunión Reglamentaria, A.M.E.P.-A.C. Pag. 91, Abril 1979.

- 9.- Kulovich M.V., Hallman M., Gluck L.: The Lung Profile - I. Normal Pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. September I:57-63, 1979.
- 10.- Kulovich M.V., Gluck L.: The Lung Profile II. Complicated Pregnancy. Am. J. Obstet. Gynecol. September I:64 - 70, 1979.
- 11.- Bonilla Musoles J.: Líquido Amniótico: origen, investigación y aplicación química, Ed. Científico Médico Medicina, C. A., Caracas 1975, pags. 5-28.
- 11.- Greenhill: Líquido Amniótico (Capítulo V en Obstetricia). pgs. 74-726. Ed. Interamericana, México 1977.
- 13.- Mendelbaum B., Lacroix G.C., Robinson A.R.: Determination of fetal maturity by spectrophotometric analysis - of amniotic fluid. Obstet Gynecol. 29-471, 1967.
- 14.- Pitkin R.M. Zwirek S.J.: Amniotic fluid creatinine. Am. J. Obstet. Gynecol. 38:375, 1971.
- 15.- Bronsens I., Gordon H.: The estimation of maturity by - citologic examination of liquor amni. J. Obstet. Gynecol. Br. Commonw. 73:88, 1966.
- 16.- Droege Mueller W., Jackson C., Makowskiel, Battagua F.C. Amniotic fluid examination as an aid in the assesment - of age. Am. J. Obstet. Gynecol, 104:424, 1969.
- 17.- Harbert G.M. Valoración de la madurez fetal. Clin-Obstet.

- Gynecol. 16(4): 165, 1973.
- 18.- Beazley J. M., Underhill R.A.: Fallacy of the fundal -- height Br. Med. J. 4: 404, 1970.
- 19.- Hellman L.M., Pritchard. J. A.: Obstetricia Williams. -- Salvat. Editores. Mex. 1973, pag. 239. Diagnóstico del Embarazo.
- 20.- Campbell S.: The prediction of fetal maturity by ultrasonio mesasurement of the biparietal diameter. J. Obstet. - Gynecol Br. Commonw 76: 603, 1969.
- 21.- Hellman L. M., Kobayashi M., Fillisti L., Lavon M.: Sources of error in sonographic fetal mensuration and estimation of growth. Am. J. Obstet. Gynecol. 99:662, 1967.
- 22.- Thompson H.E., Makowski E.L.: Estimation of birth weight and gestational age. Obstet. Gynecol. 37: 44, 1971.
- 23.- Kempe C.H., Silver H. K., O'Brien, Editorial El Manual - Moderno, S.A., Mex. 1972, pgs. 192-194. Diagnóstico y -- Tratamiento Pediátrico.
- 24.- Gluck L., Kulovich M.V.: Fetal Lung Development. Current concepts. Pediat. Clin. N. Am. 20: 367, 1973.
- 35.- Shaw. D.J., Edit. Alhambra, S.A. Madrid 1970, pgs. 57-69 Introducción a la Química de Superficies y Coloides.
- 26.- Clements J.A.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. (N.Y.), 95-- 170, 1957.
- 27.- Avery M.E., Mead J.: Amer. J. Dis. Child., 97:517, 1959.

- 28.- Hallman M., Gluck L.: Development of the fetal lung. Jour. Perinatal Med. S. pgs.: 1-31, 1977.
- 29.- Scarpelli E.M., M.D.: Edit Lea & Febiger. 1975. Philadelphia, pgs.: 85; 212-219: 117-121; 99-105. Pulmonary Physiology of the Fetus, Newborn and Child.
- 30.- Lehninger A. L., Edit. Omega, S.S., Barcelona, España -- 1978, pgs.: 285-310; 671-699. Bioquímica.
- 31.- Scarpelli, E.M., Cosmi E.V., Raven Press. Edit., 1978, - N.Y., U.S.A. pgs. 248-249. Reviews in Perinatal Medicine Vol. 2.
- 32.- Clements y cols: Assesment of the risk of the respiratory distress syndrome by a rapid test for surfactant in - amniotic fluid. New Eng. J. Med. 286: 1077, 1972.
- 33.- Caspi E.P., Schreyer P., Tamir I.: The amniotic fluid -- foam test, L/S ratio and of fetal lung maturity. Am. J. Obstet. Gynecol. 122: 323, 1975.
- 34.- Russel P.T., Miller W. J. McLain C.R.: Palmitic acid content of amniotic fluid lecithin as an index to fetal lung maturity. Clin. Chem. 20:1431, 1974.
- 35.- Moore R.A., O'Neel K.T., Cooke R.J., Mac Lennan A.H.: -- Palmitic acid and lecithin measurements in amniotic fluid, Br. J. Obstet. Gynecol. 82: 194, 1975.
- 36.- Fencel M. de M., Tulchinsky D.: Total cortisol in amniotic fluid and fetal lung maturation. New Eng. J. Med. -- 292: 133, 1975.

- 37.- Bustos R., Kulovich M. V., Gluck L., Steven G., Evertson L., Vargas C., Lowenberg E.: Significance of phosphatidyl glycerol in amniotic fluid in complicated pregnancies. Am. J. Obstet. Gynecol. April 15: 899-903, 1979.
- 38.- Tou J. T., González R.C.: Edit. Addison-Wesby Publishing Company, Inc., 1974, pgs. 110-123. Pattern Recognition - Principles.
- 39.- ~~Brownlee~~ K.A., Edit. Wiley & Sons., 1965. Statistical Theory and Methodology in Science and Engineering.