



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE
MEXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

“MODIFICACIÓN DEL PERFIL DE FOSFOLÍPIDOS
PULMONARES FETALES EN PACIENTES DIABÉTICAS
GESTACIONALES CON LA ADMINISTRACIÓN DE
DEXAMETASONA Ó BETAMETASONA, EMPLEANDO
EL MÉTODO DE CROMATOGRFÍA BIDIMENSIONAL.”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

ARACELI MONTSERRAT CALIXTO HERNÁNDEZ

DIRECTOR: Q.B.P. LILIANA FLORES CRUZ

ASESOR: Q.F.B. MA. DEL PILAR CEDILLO MARTÍNEZ

ABRIL 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Doy gracias a Dios por darme la bendición de compartir esta dicha y el logro mas grande de mi vida con las personas mas valiosas, mis Padres y Hermanos ya que sin su esfuerzo y apoyo no hubiera sido posible la culminación de mi carrera.

A esa persona tan especial por caminar a mi lado este largo trayecto y compartir las dichas y desdenes de la vida, has sido y serás siempre un gran apoyo para mi,
gracias Erik.

Al Dr. Fernando Escobedo Aguirre y al Dr. Tomas de Jesús Mendoza Martínez del Servicio de Medicina Materno Fetal del CMN “20 de Noviembre” por haberme dado la oportunidad de llevar a cabo el trabajo experimental de esta Tesis.

A mi Directora de Tesis la
Q.B.P. Liliana Flores Cruz porque
sin ella nunca hubiera conocido ese
lado tan extenso y apasionante de la Perinatología,
gracias a su paciencia y entrega.

A mi Asesora de Tesis
Maria del Pilar Cedillo Martínez por sus
acertados consejos, pero sobre todo
por su apoyo y empeño en sacar
adelante este proyecto.

A mis Sinodales: Mtro. Cesar Octavio Jiménez Pierre,
Q.F.B. Vico Hugo Becerra López y
Q.F.B. Rosalba Cervantes Cruz por otorgarme su dedicación
y esfuerzo al revisar el proyecto y transmitirme sus conocimientos.

Al Dr. Hector Peña por brindarme
su tiempo, habilidades y sabiduría
en la realización de ésta Tesis.

INDICE

I. Introducción.	1
II. Marco teórico.	3
A. Origen del Líquido Amniótico.	3
1. Origen Amniótico.	4
2. Origen Fetal.	4
3. Origen Materno.	5
B. Composición.	5
1. Otros componentes del líquido amniótico.	6
C. Componentes tensoactivos del líquido amniótico.	6
1. Estudio de fosfolípidos pulmonares.	7
D. Mecanismo de acción de los glucocorticoides.	15
E. Cromatografía en capa fina.	18
F. Diabetes Gestacional	20
III. Planteamiento del problema	24
IV. Objetivos	24
V. Hipótesis	24
VI. Diseño de investigación	25
VII. Población	25
VII. Criterios	25
VIII. Variables	26
IX. Materiales y método	27
A. Materiales	27
B. Equipo	27
C. Reactivos	27
D. Metodología	28
X. Diagrama de flujo	30
XII. Resultados.	31
XIII. Analisis de resultados	35
XIV. Conclusiones	37
XV. Referencias	38

I. INTRODUCCION

El nacimiento pretérmino continúa siendo una de las causas más importantes de morbilidad perinatal, a pesar de los grandes avances de la medicina moderna, por lo que constituye un reto y punto de atención continua para el obstetra. La frecuencia oscila entre el 2 y 12 % del total de los nacimientos según las diferentes estadísticas del orbe. ⁽¹⁾ Una de las causas más frecuentes de nacimiento pretérmino es la Diabetes Gestacional, según diversos autores, la incidencia de esta en la población mexicana oscila entre 1.6 y 12% de todos los embarazos. En el Servicio de Medicina Materno Fetal del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre constituye la primera causa de hospitalización y consulta y la segunda enfermedad de referencia, con frecuencia del 25 al 30%. ⁽²⁾ De esta manera, una de las complicaciones que presentan los hijos de madres diabéticas es que la madurez pulmonar fetal no corresponde con la edad gestacional, provocando así un retraso en dicha madurez pulmonar, incluso en productos de término, a pesar de tener control metabólico adecuado. Ya que la mayoría de los productos no llegan a término es importante la intervención temprana a través de la administración de esteroides, proporcionando así al producto una mejor condición pulmonar que le permita al nacimiento adaptarse a la vida extrauterina sin apoyo ventilatorio. Por ello es de suma importancia determinar los parámetros bioquímicos del líquido amniótico para determinar la madurez fetal en comparación con los datos clínicos ⁽³⁾.

Desde los primeros estudios de Gluck y col., en 1971, se intentó predecir la madurez pulmonar fetal por pruebas bioquímicas. La mayoría se basa en la detección de alguno de los componentes del surfactante liberados al Líquido Amniótico (L.A.) por el pulmón fetal.

Son múltiples los estímulos fisiológicos y las condiciones que ejercen alguna influencia sobre la maduración pulmonar del feto. Definitivamente la intervención más estudiada para inducir madurez pulmonar fetal es la administración antenatal de corticoides a la madre. Más de dos décadas han transcurrido desde la publicación de Liggins y Howie sobre el uso antenatal de corticoides para prevenir la enfermedad de la membrana hialina. En este período más de 3.500 mujeres han sido investigadas en alrededor de 15 estudios similares, tratando de responder la pregunta que si los corticoides administrados antenatalmente previenen la aparición de la membrana hialina.

Numerosos estudios clínicos han demostrado que la administración materna antenatal de corticoides produce una reducción de la enfermedad de la membrana hialina. Un metaanálisis efectuado por Crowley reunió un total de 15 estudios clínicos aleatorios sobre 3.500 mujeres. De este análisis se desprende que la terapia antenatal con corticoides reduce la incidencia de membrana hialina en un 50%. Este efecto se observa en recién nacidos de ambos sexos, siendo el efecto más marcado antes de las 31 semanas de

gestación. Esta terapia también reduce la mortalidad neonatal en un 50%. El efecto de corticoides no muestra ser significativo si el parto sucede antes de completar 24 horas de su administración. El uso de corticoides antenatal no ha demostrado que pueda aumentar la frecuencia de infecciones maternas, fetales o neonatales; en cambio, puede reducir la incidencia de membrana hialina en presencia de ruptura de membranas de forma significativa. Contrariamente a las evidencias en algunas especies animales, el seguimiento exhaustivo a largo plazo de recién nacidos humanos expuestos antenalmente a corticoides no ha demostrado efecto adverso alguno en el crecimiento intrauterino o postnatal. Sin embargo, los efectos fetales o a largo plazo de uso de varias dosis de corticoides en forma semanal, aún no han sido cuidadosamente evaluados.

En Febrero de 1994 se realizó una reunión de consenso del NIH (National Institutes of Health) precedida de un año de estudio por expertos en el tema, que analizó toda la evidencia disponible hasta el momento, en relación al efecto de corticoides sobre la maduración fetal y el resultado perinatal. Los beneficios de la administración antenatal de corticoides en embarazos con riesgo de parto pretérmino, superan con creces los potenciales riesgos. Estos beneficios incluyen no sólo una reducción en el riesgo de membrana hialina sino también en la mortalidad y hemorragia intraventricular. Todos los fetos entre las 24 y 32 semanas de gestación con riesgo de parto pretérmino deben ser considerados candidatos para su uso. El tratamiento consiste en 2 dosis de 12 mg. de betametasona o dexametasona (fosfato) IM separadas por 12 horas. El efecto óptimo comienza después de 24 horas del inicio de la terapia y puede durar 7 días. Debido a que el tratamiento con corticoides durante menos de 24 horas también se puede asociar con una reducción en la mortalidad, la membrana hialina y la hemorragia intraventricular, deben administrarse a menos que sea esperado un parto inmediato.⁽⁴⁾

Tomando en cuenta los datos anteriores y considerando que la diabetes gestacional es una condición que afecta la madurez pulmonar se debe de establecer cual de los corticoides mencionados es el mas efectivo como inductor de la madurez pulmonar por lo que se analizará el perfil de fosfolípidos en el líquido amniótico, antes y después de la administración de los fármacos, con el fin de evaluar la acción de los corticoides sobre la producción o secreción de sustancia surfactante.

II. MARCO TEORICO

Antes de revisar los diferentes estudios que se realizan actualmente en el L.A., es necesario recordar su origen, composición, reabsorción e intercambio, lo cual no es fácil, debido a que está constituido por distintos componentes, que se producen en diferentes lugares, que circulan a distintas velocidades, por distintas vías y que varían de acuerdo a la edad gestacional, además que su estudio implica un procedimiento invasivo.

En condiciones normales el L.A es claro, a veces ligeramente opaco, blanco grisáceo o ambarino; su olor es semejante al del hipoclorito de sodio. El volumen de líquido amniótico aumenta progresivamente hasta las 34 -35 semanas (1000 a 1500 mL) y luego decrece en forma leve y gradual hasta alcanzar, al término de la gravidez, 500 a 800 mL.

En el embarazo el líquido amniótico permite los movimientos fetales y ejerce su mecanismo sobre las paredes uterinas, haciéndolos indoloros, protege al feto contra traumatismos externos, impide la compresión del cordón, facilita el acomodo fetal, mantiene la temperatura fetal y es la fuente más importante de información acerca del microambiente fetal.

A. Origen del Líquido Amniótico:

Aparece en la bolsa amniótica hacia la 8ª semana de gestación un líquido que inicialmente tiene composición similar al líquido extracelular, porque proviene del líquido intersticial del huevo. Desde la nidación hasta que aparece la circulación placentaria (28 - 30 días) se agrega por osmosis a través de la membrana un líquido con una composición similar al suero materno. El mecanismo se realiza por trasudación a nivel del amnios, por el carácter secretorio de la membrana por lo menos en los primeros estadios.

Se pueden distinguir claramente tres orígenes: Amniótico, Fetal y Materno:

1. Origen Amniótico.

Se ha confirmado la presencia de líquido en las primeras etapas de desarrollo del cigoto y también en los huevos carentes de embrión. Vacuolas de secreción de líquido han sido encontradas en las células del epitelio amniótico.

La membrana amniótica al comienzo de la gravidez está revestida de una monocapa celular, apta para la trasudación de líquidos.

El aparato secretorio celular amniótico constituye la principal fuente del líquido amniótico hasta la semana 20 de gestación, para continuar con un aporte de menor volumen posteriormente, además antes de la semana 20 de gestación, la composición de líquido amniótico y el plasma es muy similar. En embarazos avanzados el paso de líquido a través de la membrana amniótica puede hacerse en los dos sentidos, y el corioamnios actúa como una membrana porosa, pudiendo pasar tanto agua como electrolitos; por lo tanto; pequeñas modificaciones de presión hidrostática, osmótica u oncótica, podrían movilizar grandes volúmenes de líquido.

Se calcula que la superficie de intercambio del corioamnios es de aproximadamente 1.200 cm^2

2. Origen Fetal:

Se ha podido observar que en la primera mitad de la gestación, el volumen del líquido amniótico aumenta de acuerdo al crecimiento del feto, existiendo una estrecha correlación entre el peso fetal y el volumen del líquido. Se piensa que es una extensión del fluido extracelular, porque el análisis de las concentraciones de sodio, cloruros, urea son semejantes a las encontradas en el suero fetal. El feto excreta orina en la cavidad amniótica desde las semana 20 en adelante, lo que coincide con el momento en que la composición del líquido amniótico, cambia con respecto a la del plasma materno. La cantidad de orina emitida es de 20 a 30 mL/h r. Campbell y col. midieron la capacidad vesical fetal in útero mediante ecografía y encontraron en la semana 22 de gestación 22 mL. de orina, y en la semana 40 hay de 28 a 30 mL. Se calcula que al final del embarazo pasan diariamente alrededor de 450 mL. de orina fetal al líquido amniótico. La orina fetal es cualitativamente importante para la constitución del líquido amniótico, por las variaciones que produce en la osmolaridad y por el aporte de electrolitos, urea, creatinina, etc., mientras que

su contribución al volumen no es tan fundamental. Con las secreciones pulmonares sucede lo mismo; es evidente que aunque estas no desempeñan un papel importante en la regulación del volumen de líquido amniótico, contribuyen en forma notable en sus componentes lipídicos. El árbol traqueo - bronquio alveolar también contribuye a la formación de líquido amniótico, por medio de la trasudación y ultra filtración del plasma fetal por el lecho pulmonar, sólo, después de la semana 20, época en la cual el pulmón empieza a funcionar histológicamente. La piel fetal representa un órgano de transporte activo hasta el comienzo de la queratinización (20ª semana), disminuyendo su importancia a partir de entonces. Se acepta que los electrolitos pasen por vía trasamniótica, ya que en la orina fetal no se ha encontrado fósforo inorgánico ni potasio y su concentración de cloro es muy baja. ⁽⁵⁾

3. Origen Materno.

Se piensa, que el útero grávido por su amplia irrigación, su acumulo de líquido, su activa circulación y la diálisis de agua hacia la cavidad amniótica, contribuye al volumen de líquido amniótico, lo que se confirmaría con la inyección de ciertas sustancias colorantes, como el azul de índigo, y de sustancias radiactivas que pasan con rapidez hacia la cavidad amniótica evidenciándose en el líquido.

B. Composición.

El Líquido amniótico posee un peso específico de 1006 y una composición acuosa de 96.4% - 98% y 1% a 2% de solutos, distribuyéndose por igual entre sustancias orgánicas e inorgánicas. Está constituido por albúmina, sales, glucosa, lípidos, urea, ácido úrico, creatinina, vitaminas, bilirrubina, y hormonas. En el sedimento se encuentran células epidérmicas fetales y del amnios, lanugo y materias sebáceas. Se han hallado también hormona gonadotrófica, progesterona, estrógenos, andrógenos, corticoides, lactógeno placentaria, oxitocina, prostaglandinas, etc.

1. Otros componentes del líquido amniótico.

a. Citología: Las células presentes en el L.A. varían en cantidad y calidad durante la gestación, siendo las células del epitelio pavimentoso las que se encuentran en mayor proporción y la relación de ellas se utiliza para el cálculo de la edad fetal.

b. Pigmentos bilirrubinoides: La concentración de bilirrubina disminuye progresivamente y tiende a desaparecer hacia el tercer trimestre, la disminución de este pigmento estaría vinculado al paulatino perfeccionamiento de la deglución fetal, a la disminución progresiva de proteínas del L.A y al desarrollo de sistemas enzimáticos fetales que se relacionan directamente con la maduración hepática.

c. Creatinina: La concentración de creatinina aumenta en el L.A. progresivamente durante el embarazo y muestra la evolución de la maduración renal del feto, Entre las 36 y 37 semanas, los valores medios están entre 1.40 y 1.60 mg/dL. Concentraciones mayores a 2.0 mg/dL de creatinina en L.A. sugieren gestaciones de más de 37 semanas y entre las 38 y 40 semanas oscila entre 2.0 - 2.5 mg/dL.

d. Hormonas: Se han detectado en el líquido amniótico hormonas como Cortisol, Cortisona, Adrenalina, Noradrenalina, Lactógeno Placentario, Gonadotropina Coriónica y Estradiol, el rol sobre la unidad feto placentario no está establecido pero podrían tener participación en la regulación paracrina de algunas funciones orgánicas fetales.

e. Enzimas: Hacia el término de la gestación puede comprobarse una escasa actividad de cistino-aminopeptidasa (degrada Oxitocina) en el líquido amniótico. Esta enzima no procede de la placenta sino del tracto digestivo fetal, pues se eleva en el Líquido amniótico que contiene meconio. Especial interés tiene la presencia de acetilcolinesterasa, debido a su relación con defectos del tubo neural. (Weaver, 1988).⁽⁵⁾

C. Componentes tensoactivos del líquido amniótico.

El surfactante pulmonar es una mezcla compleja, de naturaleza heterogénea, su composición varía con la edad gestacional; en estado maduro es aproximadamente un 80% de fosfolípidos, 10% de proteínas y 10% de lípidos neutros (fundamentalmente colesterol). El principal fosfolípido en el surfactante es la fosfatidilcolina, también llamada Lecitina, que da cuenta del 50% de los fosfolípidos presentes en el surfactante, ya sea en sus formas

disaturada (40-50%) y saturada. El fosfatidilglicerol (PG) es el segundo fosfolípido en importancia, constituyendo el 5-15% del total de fosfolípidos. Otro fosfolípidos relevantes son fosfatidiletanolamina (3-5%), fosfatidilinositol (2%) y esfingomielina (2%).

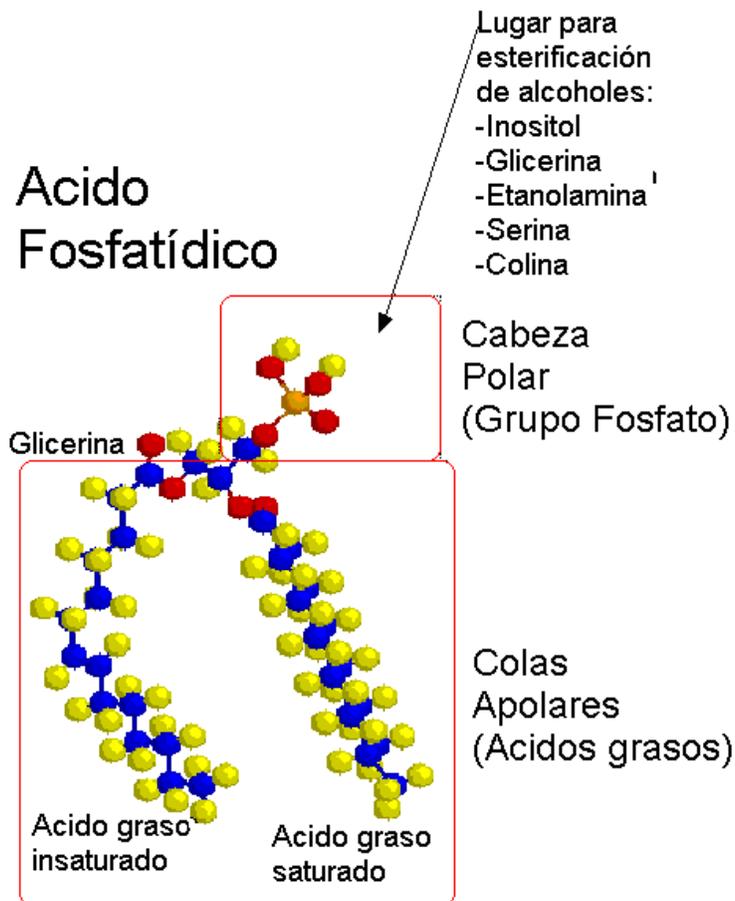
Se han descrito 4 proteínas presentes en el surfactante: la proteína SP-A (2-4% del total del surfactante) que juega un rol en la secreción de fosfolípidos del surfactante y la recaptación, y también aumenta las defensas de los pulmones. Las proteínas SP-B y SP-C son proteínas hidrofóbicas constituyen el 2-4% del surfactante y serían importantes para la activación en superficie del surfactante. Por último la proteína D, cuya estructura y función específica no ha sido determinada.⁽⁶⁾

1. Estudio de fosfolípidos pulmonares.

Para comprender mejor el estudio de los fosfolípidos pulmonares, es necesario conocer cómo se componen estas biomoléculas, por tanto los fosfolípidos o fosfoglicéridos pertenecen a la clasificación de los lípidos complejos que se caracterizan porque contienen ácidos grasos como componentes que están unidos al esqueleto de glicerina por covalencia como se muestra en la Figura 1. Reciben también el nombre de lípidos saponificables porque producen jabones por hidrólisis alcalina. Los ácidos grasos que se pueden unir poseen una cadena hidrocarbonada larga con un grupo carboxilo terminal, la cadena hidrocarbonada puede ser saturada como el ácido palmítico (C₁₆), o puede tener uno o más dobles enlaces como el ácido oleico (C₁₈).

Se designa con vaguedad a los fosfoglicéridos como fosfolípidos o fosfátidos, pero debe tenerse presente que no todos los lípidos que contienen fósforo son fosfoglicéridos; por ejemplo, la esfingomielina es un fosfolípido porque contiene fósforo, pero es mejor clasificarlo como esfingolípido debido a la naturaleza de la estructura del esqueleto al que se halla unido el ácido graso.

En los fosfoglicéridos uno de los grupos hidroxilo primarios de la glicerina se halla esterificado por el ácido fosfórico; los demás grupos hidroxilo lo son por ácidos grasos. El compuesto originario de la serie es, por tanto, el éster fosfórico de la glicerina. Debido a que los fosfoglicéridos poseen una cabeza polar, además de sus colas hidrocarbonadas no polares, reciben el nombre de lípidos *anfipáticos*. El compuesto originario de los fosfoglicéridos es el ácido fosfatídico que contiene un grupo de cabeza no polar. (Figura 1)⁽⁷⁾



Cortesía de Enciclopedia Encarta.

Figura 1 Estructura general de los fosfoglicéridos, en forma tal que pone en manifiesto su estructura anfipática. Habitualmente, el ácido graso en la posición dos es insaturado

Los fosfolípidos más abundantes en los tejidos humanos son la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina y la fosfatidilserina. A pH fisiológico, la fosfatidilcolina y la fosfatidiletanolamina no tienen carga neta y adoptan la forma de bipolares, mientras que la fosfatidilserina tiene una carga neta de -1 por lo que es un fosfolípido ácido. Tanto el fosfatidilinositol como el fosfatidilglicerol son portadores de una carga formal de -1 a pH neutro y son, por tanto, lípidos ácidos.

Los fosfolípidos en las membranas realizan diferentes funciones, aunque se hallan presentes en fluidos corporales tales como el plasma y la bilis, las concentraciones más elevadas de fosfolípidos se encuentran en las diversas membranas celulares donde actúan como componentes estructurales y funcionales. Casi la mitad de la masa de la membrana eritrocitaria está formada por diversos fosfolípidos. Los fosfolípidos también activan ciertas enzimas. La β -hidroxibutirato deshidrogenasa es una enzima integral de la membrana

interna de las mitocondrias que tiene un requerimiento absoluto de fosfatidilcolina; ni la fosfatidilserina ni la fosfatidiletanolamina pueden sustituirla.

El funcionamiento normal del pulmón depende del suministro constante de dipalmitoil-lecitina, en el que la molécula de lecitina contiene ácido palmítico, tanto en la posición 1 como en la 2. más del 80% del fosfolípido de la capa líquida celular que tapiza los alvéolos pulmonares normales esta constituido por dipalmitoil-lecitina. Este fosfolípido tensoactivo es producido por los neumocitos tipo II. ⁽⁸⁾ La interfase aire-líquido que se encuentra entre los gases respiratorios y las molécula solubles que componen la superficie del epitelio respiratorio, crea un área de muy alta tensión superficial. La presencia de surfactante pulmonar, disminuye la tensión superficial en esta interfase, los fosfolípidos actúan en el momento del nacimiento a nivel de la interfase líquido pulmonar – aire, favoreciendo la permanencia de un residuo de aire en los alvéolos para evitar la retracción y la consecuente atelectasia pulmonar. (Figura 2)

Como resultado de la deficiencia de surfactante, los tejidos pulmonares tienen poca elasticidad y no responden eficazmente a las fuerzas de aspiración expiración. Otro tensor que interfiere es la asfixia, esta causa la vasoconstricción de los capilares pulmonares, reduciendo la circulación en los alvéolos y produciendo una mayor atelectasia en los pulmones. ⁽²⁸⁾



Cortesía de Devlin, T. *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas.*

Figura 2. *Papel del tensoactivo en la prevención de la atelectasia*

La principal causa de morbilidad neonatal, es el Síndrome de Dificultad Respiratoria (S.D.R.), actualmente denominado Síndrome de Microatelectasias Múltiples o SMAM, debido a la inmadurez funcional del pulmón. Las primeras evidencias que relacionaron el SMAM o SDR con el déficit de surfactante pulmonar, se obtuvieron a fines de la década del 50, constituyéndose en uno de los avances más importantes de la Perinatología, ya que la determinación de los fosfolípidos pulmonares en el líquido amniótico del feto, permite decidir el momento óptimo para extraerlo cuando las condiciones intrauterinas son desfavorables. (Avery /Mead, 1959).⁽⁵⁾

El síndrome de dificultad respiratoria SDR o SMAM es una entidad propia del recién nacido, particularmente del neonato prematuro debido a la inmadurez general del desarrollo y en especial a la deficiente madurez pulmonar, la cual se traduce en síntesis, depósito o liberación disminuidas de surfactante pulmonar, desarrollo estructural incompleto de los pulmones, debilidad de la pared torácica, aumento de líquido pulmonar y resistencia vascular pulmonar aumentada. El síndrome puede ser leve a severo, con polipnea hasta de 70 a 120 respiraciones por minuto, retracción xifoidea importante y quejido espiratorio, que reflejan la tendencia de los pulmones a retener aire en la aspiración, la distensibilidad pulmonar se reduce a una cuarta a quinta parte del valor usual. La capacidad funcional está marcadamente reducida y la capacidad vital es restringida, la resistencia en las vías aéreas permanece esencialmente sin cambios, pero el decremento en la distensibilidad pulmonar incrementa gradualmente el trabajo respiratorio.⁽³⁰⁾

Para determinar madurez pulmonar fetal se evalúa la presencia de fosfolípidos pulmonares en el líquido amniótico mediante la determinación de los fosfolípidos.⁽⁴⁾

La investigación de los fosfolípidos existentes en el líquido amniótico ha aclarado gran parte de los problemas existentes con respecto a la maduración pulmonar fetal y al síndrome de dificultad respiratoria idiopática, enfermedad de la membrana hialina o *SMAM*.

La tensión superficial ha sido medida por Enhörning en corderos y fetos humanos, observando en estos últimos a 37°C una cifra promedio de 69,5± 0,4 dinas por centímetro.

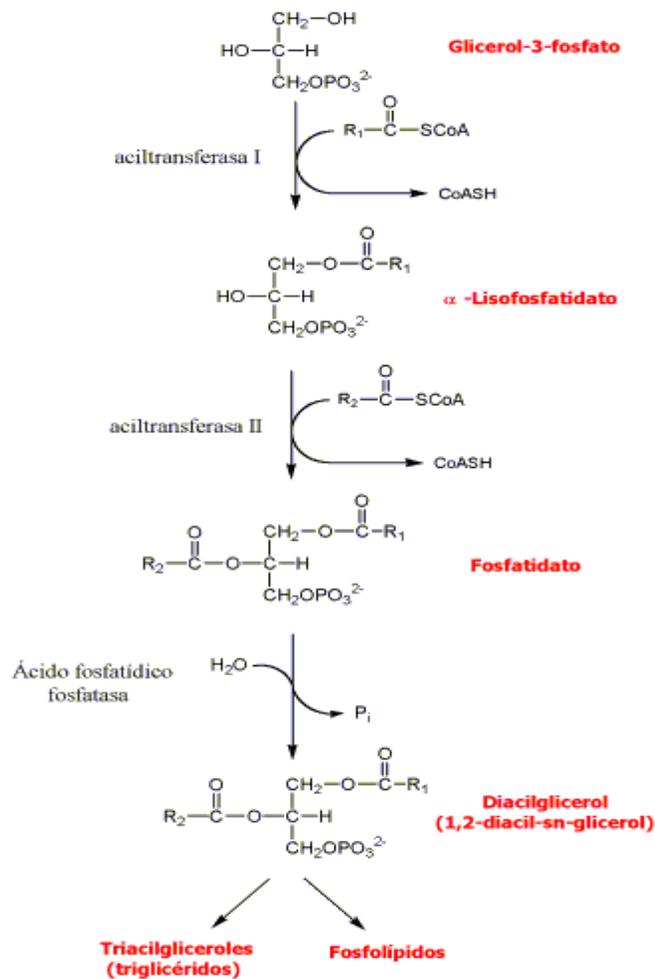
En 1959 Avery y Mead demostraron la falta de sustancia tensoactiva indispensable en el pulmón de los niños nacidos con enfermedad de la membrana hialina, en contraposición con otros que murieron en las primeras 48 horas por otra causa. De ahí surgió la idea de identificar bioquímicamente la composición de esta sustancia tensoactiva, que fue denominada surfactante por Scarpelli (de *surface active*) y que definitivamente quedó catalogada como

fosfolípido. Así mismo los fosfolípidos totales medios como fósforo fosfolipídico total fueron dosificados por Nelson, quien halló valores superiores a los 0,140 mg para líquidos amnióticos correspondientes a embarazos de término con fetos sanos. Para Gluck, Kulovich y Spellacy la valoración del fósforo lecitínico es el método más fidedigno de todos los utilizados para valorar la madurez pulmonar, ya que considera que la valoración del fósforo lecitínico tiene sobre el coeficiente lecitina/esfingomielina la ventaja de no alterarse por el incremento de esfingomielina. ⁽³⁾

En 1971 Gluck, Kulovich, Border, Brenner, Spellacy publicaron un artículo del diagnóstico del Síndrome de Distress Respiratorio (SDR) por amniocentesis, en el se menciona que los cambios en los fosfolípidos en el líquido amniótico reflejan el desarrollo en el pulmón fetal; un incremento repentino en la concentración de lecitina después de las 35 semanas de gestación anuncia madurez en el revestimiento alveolar. De fosfolípidos particularmente lecitina es el mayor componente de actividad superficial en el revestimiento del alveolo. La concentración de lecitina y esfingomielina es casi igual antes de las 35 semanas, cuando la concentración de lecitina es 4 veces la de la esfingomielina, en las subsecuentes semanas la concentración de lecitina continúa en aumento mientras que la esfingomielina disminuye. Con el uso de la cromatografía en capa fina las medidas relativas de ambos fosfolípidos son la clave de la maduración; las manchas de lecitina y esfingomielina cuando son de igual tamaño o donde aparece más grande la esfingomielina representa inmadurez pulmonar, mientras que una mancha de lecitina claramente más larga que la esfingomielina marca una madurez pulmonar.

Bioquímicamente en los pulmones de los fetos con SDR hay una marcada disminución en concentración del mayor compuesto lecitínico con actividad superficial. La biosíntesis normal de la lecitina en el ser humano es efectuado por dos Vías: (1) citidin difosfocolin + D – α , β – diglicerido \rightarrow lecitina; (*Fosfocolin-transferasa*) este sistema es la principal vía para la síntesis de novo en el pulmón así como en otros tejidos; la actividad de la fosfocolin transferasa se encuentra en la fracción microsomal de los tejidos del pulmón y es estable aun en condiciones adversas y la Vía (2) fosfatidiletanolamina + 3 CH₃ \rightarrow lecitina. (N-metil transferasa) en donde la N-metil transferasa cataliza la transferencia de los grupos metilo de la S-adenosil-L-metionina al grupo amino de la fosfatidiletanolamina para producir lecitina.

La lecitina producida por cada vía es distintiva en el ácido graso esterificado en el carbono β de la lecitina con actividad superficial. La Vía 1 sintetiza predominantemente α - palmítico/ β - palmítico lecitina y en la Vía 2, α - palmítico/ β -mirístico. La hora de desarrollo de las dos vías muestra que la Vía 2 como la mayor vía (pero marginal) viene de la semana 22 a la 24 para la producción de lecitina de actividad superficial. Después de la semana 35 la Vía 1 se activa. Durante el desarrollo, la lecitina producida por la Vía 1 parece estar almacenada intracelularmente hasta alrededor de la semana 35 cuando, con el aumento de lecitina encontrada en el líquido amniótico, aparece en los espacios alveolares moderadamente. Esto representa que en la semana 35 el aumento de lecitina en el líquido amniótico anunciará madurez pulmonar. ⁽⁹⁾



Cortesía de Schumm, D. Principios de bioquímica

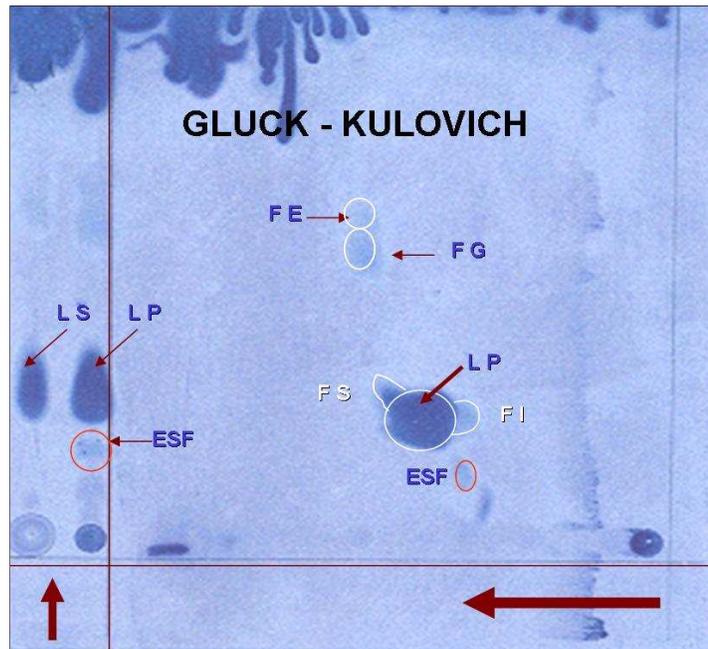
Figura 3. Biosíntesis del ácido fosfatídico a partir del glicerol 3-fosfato y papel de las fosfatasas de ácidos fosfatídicos en la síntesis de fosfolípidos y triacilgliceroles

La vía de la Metiltransferasa fue descrita por Bremer y col. Esta vía metabólica utiliza la metionina como donador de metilo en presencia de ATP. Sintetiza particularmente palmitoil miristoil lecitina, esta vía permite al feto sobrevivir si nace prematuro pero es muy sensible a cambios de pH, de manera que ante situaciones de SMAM donde se asocia hipoxia y acidosis, se inhibe la actividad de este sistema de transmetilación siendo la vida media del surfactante de 14 horas y así la exigencia de sintetizarlo en grandes cantidades y muy rápidamente, situación que puede ser solo solventada por la vía de la fosfocolincitidin transferasa.

La vía de fosfocolincitidin transferasa fue descrita por Kennedy. El 90% de lecitina en un pulmón de producto a término es producido por esta vía y una vez iniciada la respiración por el neonato se encarga del 90-100% del total de la lecitina. ^(2, 10,11)

Así mismo, Gluck y Kulovich en 1973 analizaron los índices de lecitina/ esfingomielina (L/S) en el líquido amniótico en el embarazo normal y anormal en este estudio se menciona que solo en el embarazo normal el índice de lecitina/esfingomielina se correlaciona con la edad gestacional. Anormalidades del embarazo incluyendo condiciones maternas, fetales y placentarias pueden afectar marcadamente la maduración del pulmón fetal. Ciertas condiciones asociadas, como por ejemplo la hipertensión materna y condiciones placentarias serias incluyendo sangrado retroplacentario y ruptura de membrana, acelera la madurez del índice de L/E; mientras que otras condiciones como la diabetes tipo I, II o gestacional demoran la madurez del índice de L/E. ⁽¹²⁾

En 1974 Gluck y Kulovich publicaron la interpretación y significado del índice de lecitina / esfingomielina en el líquido amniótico, en el artículo se trata el uso de precipitación de la lecitina con acetona fría, la cual permite la evaluación de la fracción fisiológica (con actividad superficial) de la lecitina, esta fracción ayuda a determinar rápidamente la madurez pulmonar y posiblemente a prevenir falsas predicciones. Un importante fenómeno asociado con el desarrollo de la madurez del pulmón fetal es el incremento del porcentaje de la lecitina total que es producido por la fracción de lecitina precipitable con acetona en cuanto la gestación progresa; así pues un alto porcentaje del material de precipitado con acetona nos indica una rápida madurez pulmonar y una baja probabilidad de sufrir SDR. (Figura 4). ⁽¹³⁾



Cortesía de Q.B.P. Liliana Flores Cruz. Laboratorio de Líquido amniótico. Medicina Materno Fetal. CMN 20 de Noviembre
 Figura 4. Evidenciación de fosfolípidos pulmonares fetales

De la misma manera, Hallman en 1976 contribuyó con la investigación del fosfatidilinositol y fosfatidilglicerol en el líquido amniótico como índices de madurez pulmonar, donde indica que los fosfolípidos menores en el líquido amniótico de embarazos normales se correlacionaron con el ya establecido índice de madurez pulmonar L/E. Cuando el índice de de L/E es menor de 1.0, el fosfatidilglicerol (PG) y el fosfatidilinositol (PI) están ausentes o en bajas concentraciones. Paralelo al incremento del índice de L/E cuando es de 2.0, el contenido de PI incrementa de 6.0 a 8.0 % de lípido fosfórico. PG el único fosfolípido surfactante del pulmón, primero aparece y PI análogamente disminuye cuando el índice le L/E excede de 2.0, indicando la secreción de surfactante en la madurez pulmonar. ⁽¹⁴⁾

Posteriormente en 1977 Hallman y Gluck realizaron una recopilación de todos los datos relacionados con el perfil de fosfolípidos en un trabajo titulado "Desarrollo pulmonar fetal" en el se analizaron detalladamente aspectos del desarrollo anatómico e histológico del pulmón fetal así como la composición del surfactante y la biosíntesis de los fosfolípidos, mostrando así que no solo el perfil bioquímico nos da las estimaciones de madurez pulmonar, sino que hay aportaciones de Clements y Socol que remiten la madurez pulmonar con sencillas pruebas biofísicas. ^(15,16) Por ultimo hace notar la acción farmacológica para prevenir SDR y sus diversas aplicaciones y mecanismos de acción. ⁽¹⁷⁾

Por otro lado, tomando en cuenta que puede haber condiciones durante el embarazo que modifican o retrasan la madurez pulmonar como es en el caso

de la diabetes gestacional, desde hace años se conoce que determinados factores aceleran la maduración del pulmón fetal (parto-oxitocina, ruptura prematura de membranas, estrés fetal, productos del tabaco, glucocorticoides, etc.) y que otros, la retardan (insulina, beta-hidroxibutírico, etc.). Entre los factores que la aceleran, los glucocorticoides han sido los mejor estudiados.

En el año 1974, Ballard y Ballard publicaron un trabajo en el que señalaban que en el citoplasma de los neumocitos tipo II había receptores para glucocorticoides y que en el feto humano, se podían detectar desde la 12 semana de gestación hasta la 43. En el mismo trabajo, los autores afirman que los niños nacidos prematuramente y que desarrollan un cuadro de dificultad respiratoria, carecen de dichos receptores citoplasmáticos, tanto en el pulmón como en el hígado. Los glucocorticoides no actúan directamente sobre los neumocitos tipo II, sino que lo hacen a través de los fibroblastos del pulmón, donde activan receptores para dichas hormonas y donde éstas estimulan la síntesis del factor neumocito fibroblasto, que es un polipéptido de bajo peso molecular, cuya síntesis está limitada al pulmón y que es el intermediario que utilizan los glucocorticoides para inducir la síntesis de fosfatidilcolina. ⁽¹⁸⁾

D. Mecanismo de acción de los glucocorticoides.

El mecanismo de acción de los glucocorticoides en los pulmones es semejante al de estas sustancias en otros tejidos. Después de penetrar en el neumocito, los glucocorticoides se unen a receptores específicos en el citoplasma. El complejo receptor-glucocorticoide después es translocado o llevado al núcleo, sitio donde interactúa con el DNA. Los genes que codifican proteínas específicas son transcritos, y como resultado se produce RNA mensajero específico, sustancia que penetra en el citoplasma y entonces la secuencia proteínica que codifica es traducida a los ribosomas. La afinidad de los glucocorticoides por el receptor de estas sustancias en el pulmón suele ser similar a la de otros tejidos; la dexametasona y la betametasona poseen una mayor afinidad que los corticoides naturales como cortisol, cortisona y dihidrocorticosterona. ⁽¹⁹⁾

Los glucocorticoides intervienen en la biosíntesis de la lecitina disaturada ya que favorecen la formación del "factor neumocito fibroblasto" por fibroblastos del pulmón fetal y este factor es el que origina un aumento en la síntesis de lecitina disaturada por activación enzimática. El importante papel que juegan estas hormonas en el proceso de madurez pulmonar fetal es la base de la terapia con glucocorticoides exógenos para acelerar la madurez pulmonar y este tratamiento farmacológico parece inducir receptores beta-adrenérgicos en los neumocitos tipo II. Tanto la síntesis de lecitina disaturada como la de PG

están relacionadas con la actividad beta-adrenérgica, bien directamente o al modular dicha actividad la acción de otras hormonas.

La presencia o ausencia de estos receptores determina que un tejido en particular responda o no al estímulo del esteroide y su número limita la concentración hormonal máxima a medida que los receptores son envueltos. El aumento en la velocidad de transcripción se inicia aproximadamente una hora después de la administración del esteroide y el máximo de incremento en el contenido de ARNm y proteínas se da entre 24 y 48 horas respectivamente. Esto explica por qué el beneficio es máximo si el parto se da después de 48 horas de la primera dosis de esteroide. Los regímenes recomendados usualmente conllevan una ocupación aproximada del 75% de los receptores disponibles, lo que produce una respuesta fetal en los órganos blancos cerca del máximo y por lo tanto no se justifican dosis más altas o más frecuentes. Los esteroides causan citodiferenciación y cambios precoces en las proteínas responsables del desarrollo sólo aumentan el surfactante sino que producen cambios estructurales tanto en las células epiteliales de la vía aérea como en los fibroblastos. Parece que estos cambios no revierten una vez ha pasado el tiempo de acción del esteroide, y esto podría explicar que el efecto protector persista, aunque en menor grado, mas allá de los siete días.

Los efectos de los glucocorticoides en el pulmón en desarrollo son:

- Incrementan el surfactante alveolar y tisular.
- Aumentan la distensibilidad y el volumen pulmonar máximo.
- Disminuyen la permeabilidad vascular.
- Aumentan el aclaramiento del líquido del pulmón.
- Aumentan la respuesta al surfactante.

Los primeros autores que demostraron la eficacia de los corticoides en la disminución de la incidencia de S.D.R., en los niños nacidos antes de las 32 semanas de amenorrea, fueron Liggins y Howie en 1972. ⁽²⁰⁾ No obstante, con anterioridad, Liggins había observado que los corderos nacidos después de haber estado expuestos intraútero a la acción de los corticoides, sobrevivían más de lo esperado.

En este ensayo se utilizó terapia con betametasona y fue realizado en 282 madres en las que había amenaza de parto pretérmino inminente o fue programado el alumbramiento antes de las 37 semanas de gestación, en la esperanza de reducir la incidencia del síndrome respiratorio neonatal acelerando la maduración funcional del pulmón fetal.

Los resultados del trabajo publicado por Crowley y cols. en 1990 son definitivos para consolidar los beneficios de la terapia con corticoides antes del parto

pretérmino. Los autores realizan un metanálisis en el que incluyen doce ensayos con cerca de tres mil mujeres. Se administraron glucocorticoides antenatalmente, para acelerar la maduración del pulmón fetal, a gestantes con amenaza de parto pretérmino o con parto pretérmino programado. La betametasona administrada según el método de Liggins, es el glucocorticoide más utilizado por los autores que fueron incluidos en el metaanálisis, siguió en frecuencia, la dexametasona.⁽²¹⁾

Crowley y cols. demuestran que hay una disminución estadísticamente significativa de la morbilidad y de la mortalidad perinatales. La reducción de la morbilidad respiratoria se encuentra entre el 40 y el 60%, obteniéndose efectos beneficiosos en todas las edades gestacionales hayan o no sufrido ruptura de membranas. Los mayores efectos se consiguen cuando el niño nace después de las primeras 24 h. y antes de los siete primeros días postratamiento; no obstante, la evidencia demuestra que antes o después del intervalo citado, también se obtienen resultados favorables.⁽²¹⁾

Tanto la betametasona como la dexametasona cruzan la placenta y son inactivadas en cierto grado por enzimas placentarias que convierten los esteroides activos en 11-cetosteroides inactivos. La concentración fetal de betametasona alcanza 33% de aquella en circulación materna. Ambos medicamentos se aplican por vía intramuscular; esta es la vía mas adecuada por su absorción debido a su hidrosolubilidad.

La dosis óptima ha sido fijada en dos dosis de 12 mg. de betametasona por vía intramuscular con intervalo de 24 horas, o cuatro dosis de 6 mg. de dexametasona por vía intramuscular con intervalo de 12 horas. La betametasona tiene un efecto ligeramente mayor aquel a dexametasona en la reducción de Microatelectasias múltiples (OR de 0.49 y 0.55 respectivamente) La disminución de la mortalidad solo es significativa para la betametasona con un OR de 0.52, comparado con 0.89 de la dexametasona.

El índice de leucomalacia periventricular quística entre los neonatos cuyas madres recibieron betametasona fue de 4.4%, dexametasona de 11% y 8.04% entre los que no recibieron corticoides. La exposición prenatal de la betametasona, no así la dexametasona, se vinculó con una reducción en la incidencia de leucomalacia periventricular quística entre los neonatos muy prematuros.

La betametasona se relaciona con reducción en los movimientos fetales, siendo esta reducción importante pero temporal. Los movimientos corporales se reducen en un 50 % 48 horas después de la dosis inicia, y los movimientos fetales en un 90%. Los cambios observados tanto en la conducta como en la frecuencia cardiaca fetal pueden deberse a un efecto directo de los

glucocorticoides sobre el cerebro fetal. Los efectos de la administración de los glucocorticoides a la embarazada incluyen deterioro del control de la glucosa en la diabética, incremento en la tensión arterial, edema pulmonar, supresión suprarrenal, disminución del líquido amniótico, aumento de la resistencia de arteria umbilical y cerebral media y un incremento en el riesgo de infección o enmascaramiento de una infección subclínica.⁽¹⁹⁾

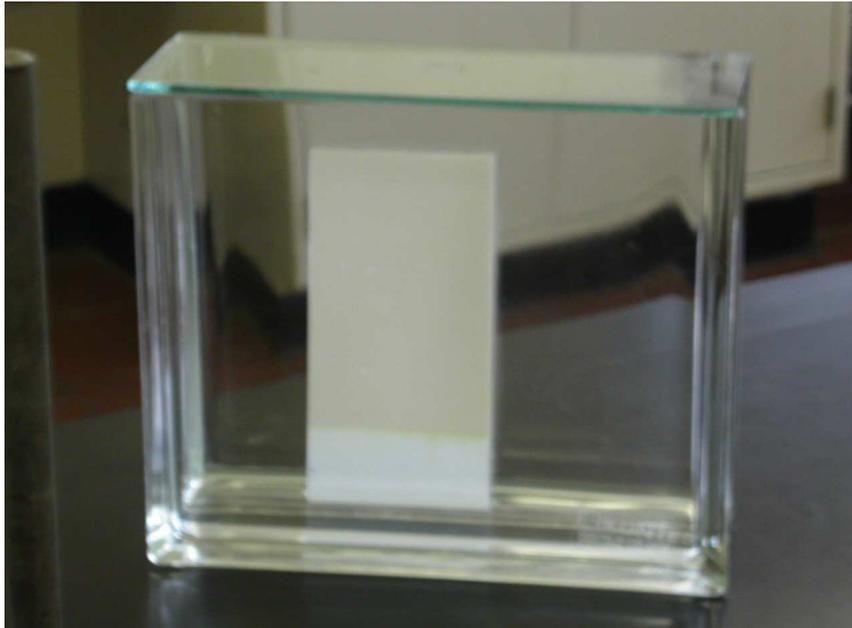
E. Cromatografía en capa fina.

Una herramienta necesaria para evidenciar la presencia y la modificación producida por los corticoides del perfil de fosfolípidos es la cromatografía bidimensional. La cromatografía constituye una técnica sencilla y rápida que en muchos casos, no requiere aparatos complicados, se puede utilizar de una manera microanalítica (del orden del μg) hasta la industrial; se puede obtener un registro permanente del análisis (cromatograma); es una técnica poco o nada destructiva que puede aplicarse a sustancias hábiles.

La palabra cromatografía (*kromatos*, color, *graphos*, escrito) fue utilizada por primera vez por el botánico ruso M. Tswett en 1906 para designar una técnica empleada por él para separar pigmentos vegetales; hizo pasar por una columna de vidrio, rellena de carbonato de calcio, un extracto de hojas verdes en éter de petróleo; adicionando posteriormente el disolvente puro por la parte superior de la columna obtuvo una serie de bandas horizontales diversamente coloradas, debido al diferente adsorción por el carbonato de calcio de los colorantes de la planta: así logro separar dos tipos de clorofila, cuatro xantofilas y un caroteno. Actualmente se sabe que la separación no esta condicionada por el color, ya que se aplica a múltiples productos incoloros, sin embargo, se sigue utilizando el nombre de cromatografía por motivos históricos.

En cuanto a las diferentes variantes de la técnica posiblemente la definición mas correcta es que se trata de un método físico de separación en el que los componentes a separar se distribuyen en dos fases, una de las cuales constituye un lechos estacionario de gran desarrollo superficial y la otra un fluido que pasa a través o a lo largo del lecho estacionario (fase móvil).⁽²²⁾ En todo proceso cromatográfico la fase móvil es, normalmente, la que provoca el movimiento de las distintas especies para que abandonen el medio soporte y la fase estacionaria la que suministra el efecto retardador, selectivo para cada componente, que condiciona que cada uno de ellos se desplace con distinta velocidad.⁽²³⁾

El tipo de cromatografía empleada para evidenciar los fosfolípidos es la cromatografía en capa fina, básicamente es la técnica de separación e identificación de sustancias químicas por medio de un disolvente que se mueve sobre la capa delgada de un adsorbente idóneo; este adsorbente, se deposita sobre una hoja de vidrio o de otro material que actúa como un soporte inerte de la capa.⁽²⁴⁾ Así pues el principio del método consiste en depositar sobre dicha capa una pequeña cantidad de solución problema. Posteriormente se hace fluir un disolvente fase móvil que provoca la separación de los componentes de la muestra. En este caso en particular al utilizar la cromatografía bidimensional, se utilizan consecutivamente dos eluyentes distintos que fluyen en sentidos perpendiculares. Esta técnica se utiliza cuando ninguno de los dos eluyentes es capaz de efectuar una separación total de los componentes de la muestra, separación que se logra con su uso conjunto. Para ello se coloca la muestra en un ángulo del papel y se desarrolla un primer cromatograma con el primer sistema de eluyentes, a continuación se gira el papel 90° y se desarrolla con el otro sistema de eluyentes (Figura 5).^(22,25)



Cortesía de *Enciclopedia Encarta*

Figura 5. *Cromatografía en capa fina*

F. Diabetes Gestacional

La Diabetes gestacional se define como cualquier grado de intolerancia a los carbohidratos que ocasiona alteración en el metabolismo energético y que se detecta por primera vez durante el embarazo, independientemente de que se requiera o no insulina y de que persista después del parto, así pues es una condición que puede retrasar la madurez pulmonar por lo que es importante entender la fisiopatología.

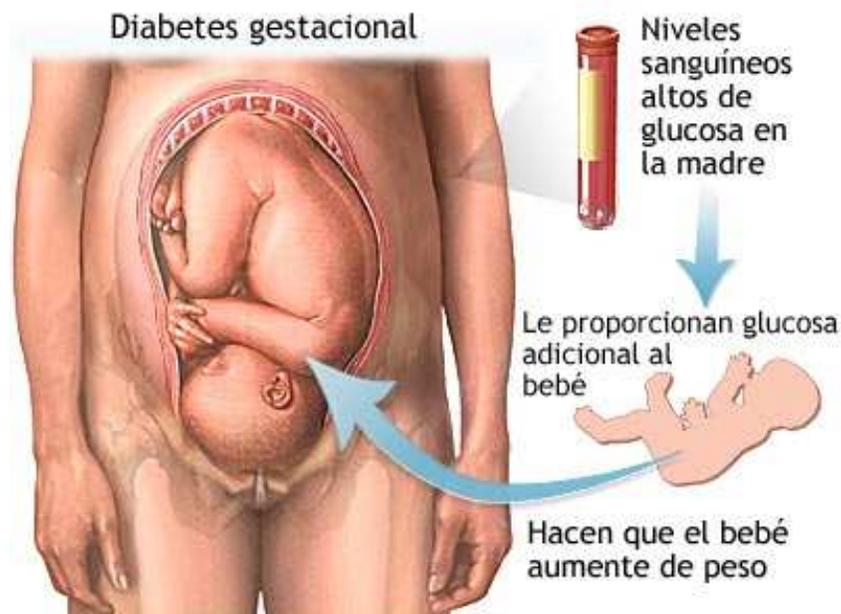
El embarazo constituye una verdadera prueba a la tolerancia a la glucosa. Los cambios hormonales que se producen a lo largo de la gestación producen un aumento de la resistencia a la insulina. Esto produce en las madres normales un aumento de los niveles plasmáticos de insulina en ayuno y especialmente postprandiales. El aumento de la resistencia insulínica pone a prueba la capacidad de secretar insulina del páncreas materno, y si ésta se encuentra disminuida, ya sea por causas genéticas o adquiridas, se van a producir hiperglicemias post prandiales y/o de ayuno según sea el grado de "insuficiencia" pancreática en la producción de insulina.

En las primeras semanas de gestación los niveles crecientes de estradiol y progesterona estimulan las células β del páncreas materno, de tal manera que existe hipertrofia de las mismas con niveles incrementados de insulina en la sangre materna, por lo tanto la producción de glucosa por el hígado

disminuye, así en un principio se observa tendencia a la hipoglucemia. Conforme la gestación avanza se elevan progresivamente los niveles de somatomatotropina coriónica hCS (hormona proteica con propiedades semejantes a la de la hormona del crecimiento) principal efector insulínico. El cortisol tiene gran efecto diabetógeno, la progesterona tiene propiedades antiinsulínicas. Al elevarse las concentraciones de prolactina y cortisol, inicia la etapa de resistencia a la insulina con gran tendencia a la lipólisis en ayuno para proporcionar energía sobre todo a la madre y reservar glucosa para el feto.⁽²⁾

La hiperglucemia materna origina una hiperinsulinemia fetal, la insulina fetal inhibe la acción estimulante que el cortisol ejerce sobre la producción de lecitina por las células tipo II del pulmón, la disminución de la lecitina origina un déficit en la síntesis del surfactante que dificulta la respiración fetal.⁽²⁹⁾

Por lo tanto la diabetes gestacional se traduce como una incapacidad progresivamente severa del páncreas para producir insulina en respuesta a una carga de glucosa y una reducción en la eficiencia de dicha hormona. La severidad de la diabetes se relaciona directamente con el grado de disfunción de las células β pancreáticas. (Figura 6).⁽²⁾



Cortesía de *Enciclopedia Wikipedia*

.Figura 6. *Diabetes gestacional*

El reconocimiento clínico de la diabetes es importante no solo para la atención inmediata de una madre y el feto sino porque están en riesgo de desarrollar diabetes mellitus años después, además esta patología implica un retraso en la madurez pulmonar del feto. Desde hace algún tiempo se sabe que la maduración del pulmón fetal es acelerada por hormonas. Los agentes que retrasan la madurez pulmonar son la insulina o la hiperglucemia. Hay

innumerables pruebas de que las hormonas circulantes intervienen de manera determinante en el ritmo final de la maduración pulmonar, pero la evidencia en cuanto a que en realidad desencadenen la producción del surfactante es menos convincente. ⁽¹⁹⁾

De esta manera existen pruebas de detección o escrutinio y pruebas diagnósticas, las primeras identifican un grupo en riesgo alto de algún trastorno en particular y en las segundas se identifican aquellas personas que en realidad tienen un trastorno más que un alto riesgo. El Tamiz metabólico se recomienda a toda mujer embarazada que se encuentre entre la semana 24 y 28 de la gestación para una mayor sensibilidad del estudio. No es necesario el ayuno ni una hora específica para la determinación de glicemia poscarga (tamiz) y para ello se requiere la ingesta de 50g. de glucosa anhidra en 200 mL de agua y la toma de glicemia venosa a la hora poscarga. Aun cuando se reconoce que la prueba de tamiz no es diagnóstica, los valores de ayuno como de poscarga se encuentran alterados, basados en los criterios de Carpenter el valor de ayuno mayor o igual a 95 mg/dL y 180mg/dL a la hora poscarga es criterio de Diabetes gestacional. ⁽²⁾

Dentro de las pruebas diagnósticas se consideran las pruebas de tolerancia a la glucosa, esta es una prueba que permite establecer la respuesta insulínica frente a un estímulo fisiológico por glucosa. Para la realización de este tipo de curvas se requiere que durante los tres días precedentes a la prueba es necesario aplicar una dieta que contenga por lo menos 150g diarios de hidratos de carbono, durante las 12 horas precedentes a la prueba, el paciente debe guardar ayuno estricto, suprimiendo incluso el café, por otro lado queda prohibido fumar y realizar ejercicio incluso ligero. Ciertos trastornos endocrinos, tales como acromegalia, hipertiroidismo o síndrome de Cushing, se asocia frecuentemente a la intolerancia a la glucosa, por tanto de deben identificar. Medicamentos diversos como los salicilatos, los diuréticos y los anticonvulsivantes disminuyen la secreción de insulina, por lo que deben ser suprimidos por los menos 3 días antes de la prueba. ^(26, 27)

La magnitud de la carga de glucosa que ha de emplearse es variable, siendo lo usual 50, 75 o 100g, recomendando una carga de 1.75 g/Kg. de peso y disolverlo en agua. Entre las 7 y las 9 de la mañana y tras 30 minutos de descanso se extrae la muestra de sangre para realizar una glucosa basal y luego el paciente ingiere la sobrecarga, obteniendo sangre a la hora, dos y tres horas posterior a la carga de glucosa anhidra. Las muestras deben de ser procesadas en un lapso no mayor a 4 horas.

Para la interpretación de la prueba en el Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” se utilizan los criterios de Carpenter y Coustan que son en ayuno 95 mg/dL, 1hr. 180 mg/dL, 2hrs. 155mg/dL, 3hrs. 140 mg/dL. Para integrar el

diagnóstico de diabetes gestacional se requiere dos o más valores alterados (iguales o mayores). A las mujeres con un solo valor alterado se les ha nombrado como intolerantes a los carbohidratos, debido a que no son normales pero tampoco cumplen con los criterios de diabetes gestacional por lo que se sugiere se les de vigilancia y tratamiento como si fueran diabéticas gestacionales. ⁽²⁾

Los métodos actuales para valorar el control metabólico de carbohidratos incluyen la determinación del nivel de glucosa en el plasma y orina. Estas determinaciones reflejan variaciones agudas y pueden no ser indicadores adecuados en los aspectos a largo plazo del control diabético. Por ello, la identificación de la hemoglobina glicosilada, es decir, la hemoglobina A_{1c} con un residuo de glucosa sobre la valina aminoterminal de la cadena β , podría constituir una técnica más útil para evaluar el control diabético. La hemoglobina A_{1c}, que representa del 3 al 6% de la hemoglobina total de los individuos sanos, puede doblarse e incluso triplicarse en los diabéticos en función del nivel de hiperglucemia.

Peterson (1977) ha postulado que la hemoglobina A_{1c} es proporcional al promedio de concentración de la glucosa; por tanto, las pruebas con A_{1c} proporcionan una útil forma de evaluación del grado de adecuado control de la diabetes. ⁽²⁶⁾

El principal objetivo del tratamiento en la paciente con diabetes es mantener niveles normales de glucosa las 24 horas del día para disminuir las complicaciones tanto maternas como fetales, por lo tanto se requiere una dieta que dependerá del rango de peso materno manejado antes del embarazo o bien del índice de masa corporal IMC, con un índice bajo, medio o alto se administran 25, 30 o 35 calorías respectivamente por Kg. de peso ideal. Se incrementan 300 cal por trimestre (en el 2º y 3º), se fracciona en quintos con dos colaciones que corresponden al 20% de las calorías totales. Se recomienda que el total de calorías se fraccione en 50-60 de carbohidratos de preferencia complejos en gran proporción y altos en contenido de fibra. ⁽²⁾

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Considerando el perfil de fosfolípidos nos planteamos el siguiente problema:

¿Cuál de los inductores tiene mejor efecto para modificar la madurez pulmonar fetal, a través de la evaluación del perfil de fosfolípidos?

IV. OBJETIVOS

- Establecer si la aplicación de un esteroide como inductor de la madurez pulmonar fetal modifica el perfil de fosfolípidos en pacientes diabéticas gestacionales.

- Comparar el efecto de la Dexametasona vs. Betametasona en la modificación del perfil de fosfolípidos pulmonares fetales.

V. HIPOTESIS

Debido a que la diabetes gestacional es una condición en la que la que la madurez pulmonar fetal se ve retrasada, se propone la siguiente hipótesis:

“Si al administrar la betametasona se logra una mejor inducción de madurez pulmonar, respecto de la dexametasona, se observará en la modificación del perfil de fosfolípidos”.

PRUEBA DE HIPOTESIS:

H_0 = La Betametasona es igual de efectiva que la Dexametasona.

H_A = La Betametasona no es igual de efectiva que la Dexametasona

VI. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:

- Experimental
- Transversal
- Prospectivo
- Comparativo
- Ciego

VII. POBLACIÓN

Pacientes embarazadas complicadas con diabetes gestacional de 36 a 36.5 semanas de gestación del Servicio de Medicina Materno Fetal del CMN "20 de Noviembre".

VII. CRITERIOS:

INCLUSIÓN:

- Pacientes diabéticas gestacionales o intolerantes a los carbohidratos del Servicio de Medicina Materno Fetal del CMN "20 de Noviembre"
- Pacientes tratadas en el servicio de Medicina Materno Fetal en quienes se documentó control metabólico intra y extra hospitalario a través de glucometrías y determinación de hemoglobina glicosilada.
- Pacientes que por consentimiento informado acepten la realización de la amniocentesis pre y post tratamiento con inductores de madurez pulmonar.
- Pacientes que concluyeron su embarazo en el CNM "20 de Noviembre"

EXCLUSION:

- Pacientes con descontrol metabólico.
- Pacientes con diabetes gestacional o intolerantes a los carbohidratos que hayan sido tratadas con esquema de inductores de madurez pulmonar previo a la amniocentesis
- Pacientes a las que se les administren otros inductores de madurez pulmonar fetal, diferentes a la dexametasona ó betametasona.

ELIMINACIÓN:

- Diabéticas Tipo I o II
- Pacientes cuyo embarazo no se resolvió en el CMN "20 de Noviembre".
- Pacientes cuyo embarazo se resuelva antes de la segunda amniocentesis

- Pacientes que no acepten la amniocentesis.

VIII. VARIABLES

INDEPENDIENTES:

- Periodo de tiempo entre cada amniocentesis (48hr) pre y post administración de corticoides

DEPENDIENTES:

- Fracciones del perfil de fosfolípidos: Relación Lecitina/Esfingomielina, % Lecitina precipitable, %Fosfatidilinositol y % Fosfatidilglicerol

IX. MATERIALES Y MÉTODO

A. Materiales

- Vasos de precipitado de 250mL
- Vasos de precipitado de 50 mL
- Tubos cónicos
- Perilla de seguridad
- Pipetas graduadas de 5 mL
- Pipetas Pasteur
- Pipetas plásticas con perilla
- Micropipetas
- Cromatofolios de sílica gel PL 60F254 0.2 mm. de espesor Merck
- Tanque de Nitrógeno

B. Equipo

- Centrífuga
- Parrilla de agitación
- Parrilla de calentamiento
- Cámaras de elusión

C. Reactivos

- Cloroformo
- Metanol
- Hidróxido de amonio
- Ácido acético
- Agua destilada
- Acetona
- Azul de bromotimol
- Bicarbonato de sodio

D. Metodología

La muestra de líquido amniótico es obtenida por amniocentesis a través del personal médico adscrito al Servicio de Medicina Materno Fetal, posteriormente el método experimental consta de dos etapas, en la primera se debe hacer una extracción por el método de Bligh-Dyer y la purificación de los fosfolípidos contenidos en el líquido amniótico y en una segunda etapa se realiza la identificación de dichos fosfolípidos con el uso de la cromatografía bidimensional. Precizando lo anterior a continuación se menciona la metodología.

Una vez obtenido el líquido amniótico por Amniocentesis se toma una alícuota de 10mL y se centrifuga durante 5 minutos a 3000 rpm. Tomar una alícuota de 5mL se mezcla con 10 mL de metanol y 20 mL de cloroformo; se coloca en la parrilla de agitación procurando no derramarse durante 10 minutos. La mezcla obtenida se divide en dos tubos cónicos y se centrifuga durante 10 minutos, posteriormente se separa la fase acuosa de la orgánica y esta última se coloca en un vaso de precipitado y se evapora en su totalidad colocando la muestra en baño maría a 70° C y con corriente de nitrógeno. El contenido del vaso de precipitado se disuelve con 3mL de cloroformo y se traspasa a un tubo cónico marcado como fase precipitable (Fp), y se vuelve a evaporar hasta sequedad en las condiciones antes mencionadas. Posteriormente al contenido del tubo cónico se le agregan 3µL de cloroformo y se comienza a precipitar con 3 gotas de acetona fría y después otras 6 gotas y se agita en un baño de hielo; cada 5 minutos se agrega 0.50 mL de acetona fría hasta completar 3 mL. El contenido de este tubo se centrifuga a 2000rpm durante 2 minutos, se separa el sobrenadante y se coloca en un tubo marcado como fase soluble (Fs), ambos tubos se evaporan hasta sequedad y a continuación se le agrega a cada uno 60 µL de cloroformo para después realizar la evidenciación de los fosfolípidos por medio de la cromatografía. Se cortan los cromatofolios de 10 x10 cm. y se marca con regla un cuadrado interno con 1.5cm de separación del borde activándolos posteriormente con aire caliente. En una esquina con una micropipeta, se coloca 10 µL de muestra del tubo Fp y se y en contra esquina otros 10 µL y junto a ésta última 10 µL de muestra del tubo Fs y se vuelve a secar con aire caliente. Se coloca la placa dentro del la cámara en el sistema desarrollador No. 1, que contiene una mezcla de cloroformo, metanol, hidróxido de amonio y agua destilada con una proporción de 65:30:2:4 de modo que eluya la primera muestra aplicada, posteriormente se detiene la elución, se saca la placa de la cámara y se seca: una vez seca se coloca en el segundo sistema desarrollador No. 2 el cual

contiene una mezcla de cloroformo, metanol, ácido acético y agua destilada a una proporción de 80:25:6:3 se saca de la cámara y se seca. Una vez que la placa esta seca se procede a teñirla con el colorante azul de bromotimol durante aproximadamente 10 segundos, se saca y se seca para después colocarla en el revelador (solución saturada de bicarbonato de sodio) por 10 segundos aproximadamente. La placa se seca y se procede a observar las manchas obtenidas, sacar el área de cada una y obtener la proporción de lecitina precipitable y soluble, esfingomielina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol, fosfatidilserina y fosfatidiletanolamina.

X. DIAGRAMA DE FLUJO

Diagrama de flujo describiendo la etapa de extracción y de purificación de los fosfolípidos.

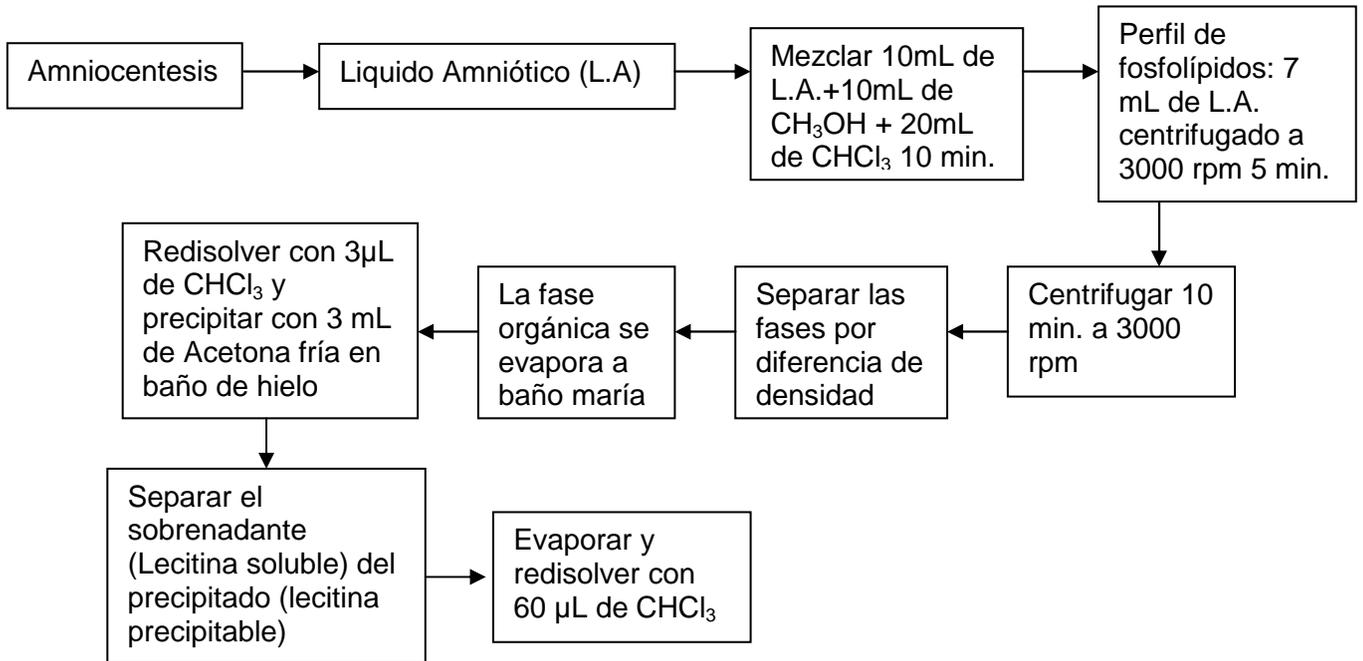
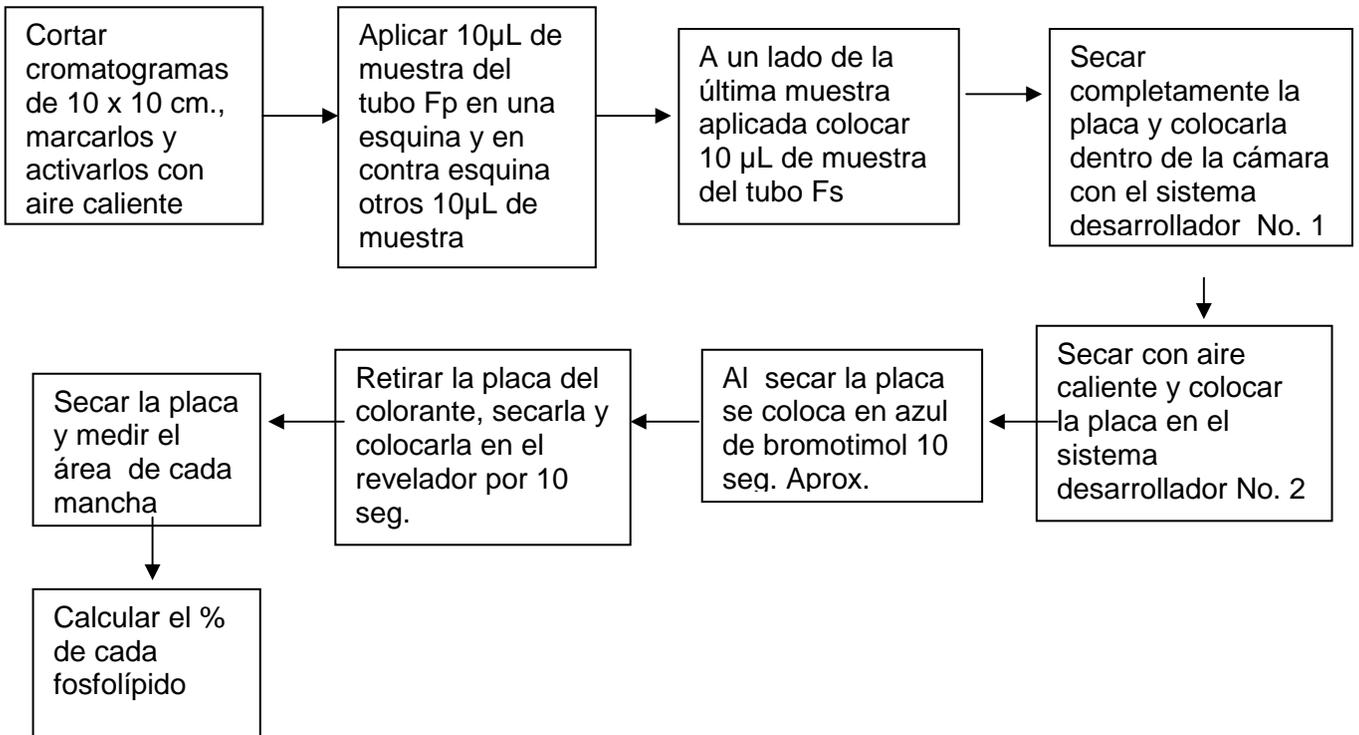


Diagrama de flujo describiendo la etapa de identificación por cromatografía bidimensional.



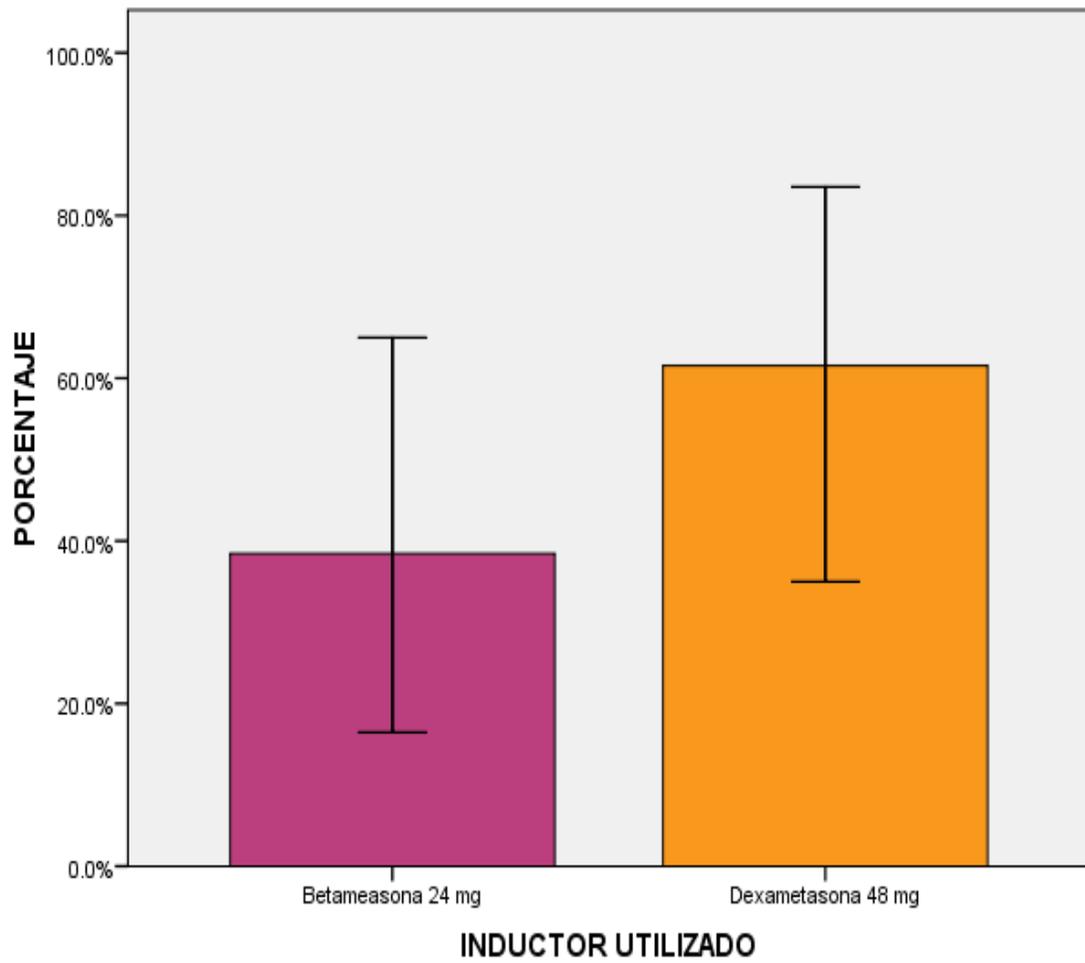
XII RESULTADOS.

Se ingresaron un total de 13 pacientes con diabetes gestacional, a las cuales se les realizaron dos amniocentesis para determinar el efecto real de los esteroides como inductores de madurez pulmonar utilizando el perfil de fosfolípidos en líquido amniótico. La edad promedio de las pacientes al estudio fue de 36.0 años, la primera amniocentesis para perfil de fosfolípidos (preesquema) fue de 36 semanas de gestación, la segunda amniocentesis (postesquema) se realizó a las 36.4 semanas. Se formaron dos grupos en el estudio, en el primer grupo se ingresaron 8 pacientes a las cuales se les administró 6 dosis de 8 mg de dexametasona como inductor de madurez pulmonar, en el segundo grupo se ingresaron 5 pacientes en quienes se utilizó betametasona como inductor, en forma de 2 dosis de 12 mg (grafica 1). Se realizó la cuantificación del perfil de fosfolípidos posterior a las dos amniocentesis con los siguientes resultados. Se presentan las determinaciones cuantitativas de los fosfolípidos pre y post esquema: relación L/E 1.68 – 2.25 (pre y post esquema respectivamente); Lecitina precipitable 47 – 55.46; fosfatidilinositol 18 – 22.0, fosfatidilglicerol 0 – 3.15. (Tabla 1)

Folio	Edad	Edad Gestacional	L/E	%L.P	%P.I	%P.G.	Inductor	L/E	%L.P	%P.I	%P.G.
060607	36	36.1	1.7	48	19	-	Dexa	1.9	49	23	-
110607	36	36.4	1.6	45	17	-	Dexa	2.0	54	19	3
150607	26	36	1.6	47	16	-	Dexa	2.0	50	21	3
160607	38	36	1.6	42	9	-	Dexa	2.0	50	23	1
100707	39	36.1	1.8	47	20	-	Beta	2.4	60	22	3
010807	40	35.6	1.7	49	20	-	Beta	2.1	53	25	3
060807	33	35.6	1.5	45	17	-	Beta	2.6	51	22	6
040208	36	36.1	2.0	49	20	-	Dexa	2.9	66	16	8
090308	41	36.4	1.7	48	18	-	Beta	3.1	63	23	5
070408	35	36	1.6	48	19	-	Dexa	2.3	63	24	3
030508	32	36	1.6	47	18	-	Dexa	2.0	50	24	2
050508	35	36.1	1.6	45	18	-	Beta	1.9	48	23	-
030708	42	36.4	1.9	51	23	-	Dexa	2.1	64	22	4

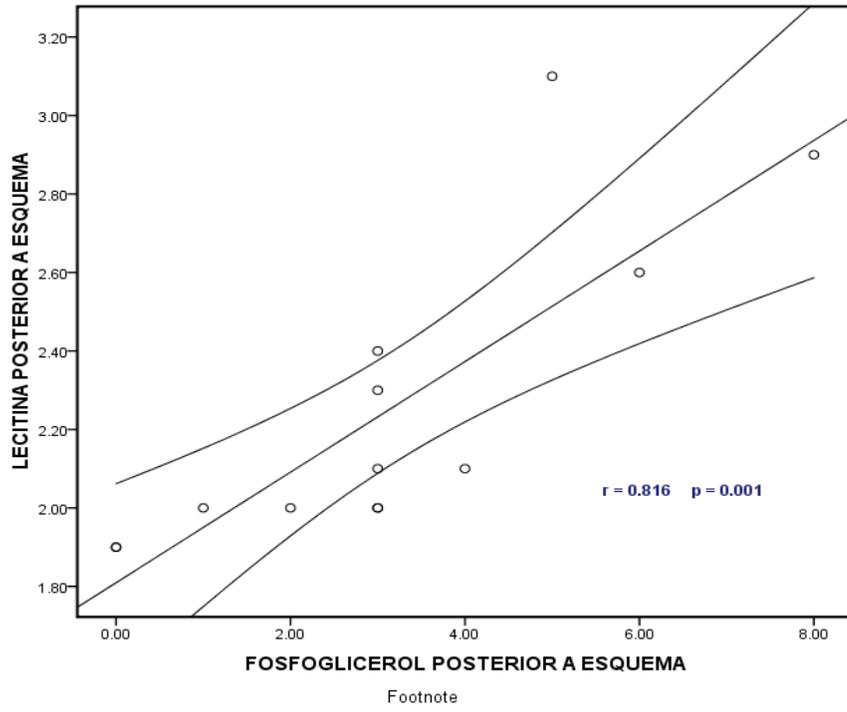
Tabla 1	N	Media	Std. Desviación
EDAD	13	36.08	4.252
SEMANAS DE GESTACION A LA PRIMERA AMNIOCENTESIS	13	35.908	.3796
SEMANAS DE GESTACION A LA SEGUNDA AMNIOCENTESIS	13	36.331	.3987
LECITINA SIN ESQUEMA	13	1.6846	.14051
LECITINA PRECIPITABLE SIN ESQUEMA	13	47.0000	2.30940
FOSFATIDILINOSITOL SIN ESQUEMA	13	18.0000	3.24037
FOSFOGLICEROL SIN ESQUEMA	13	.0000	.00000
INDUCTOR UTILIZADO	13	1.62	.506
LECITINA POSTERIOR A BETAMETASONA	13	2.2538	.39076
LECITINA PRECIPITABLE POSTERIOR A BETAMETASONA	13	55.4615	6.66603
FOSFATIDILINOSITOL POSTERIOR A BETAMETASONA	13	22.0769	2.36155
FOSFOGLICEROL POSTERIOR A BETAMETASONA	13	3.1538	2.26738

GRAFICO 1. PORCENTAJE DE PACIENTES EN CADA GRUPO

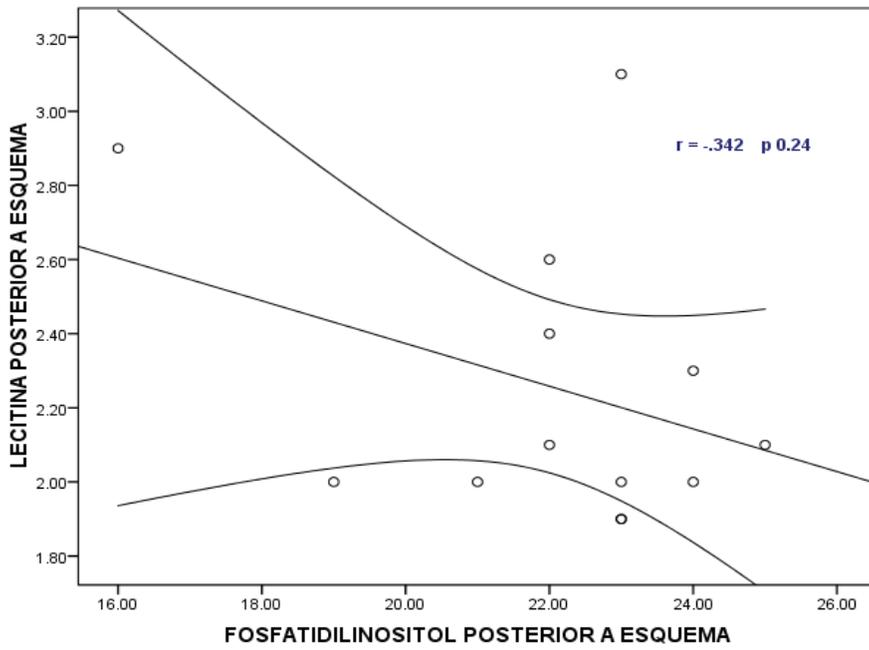


Error bars: 95% CI

GRAFICA 2 CORRELACION RELACION L/E CON FOSFOGLICEROL



GRAFICA 3 CORRELACION ENTRE RELACION L/E CON FOSFATIDIL INOSITOL



XIII ANALISIS DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el estudio fueron sometidos a un análisis estadístico utilizando el paquete estadístico SPSS 16.0 para Windows, a todas las variables cuantitativas se les realizó una prueba de Kolmogorov-Smirnoff (K-S) para determinar el tipo de distribución que presentaban, todas las variables demostraron una distribución normal con valor p en la prueba K-S >0.05 , por lo que se resumieron en medias y desviaciones estándar.

El objetivo del estudio fue demostrar si existía diferencia en las determinaciones del perfil de fosfolípidos antes y después de la aplicación de un esquema completo de inductores de madurez pulmonar, se realizó una prueba de *t pareada* para determinar si la diferencia en las cuantificaciones tenía una significancia estadística (*valor p* < 0.05).

La diferencia promedio en los valores de la relación L/E antes y después del esquema fue de 0.56 (IC 95% 0.35 – 0.79) valor $p < 0.0001$. La lecitina precipitable, presentó una diferencia de 8.46 (5.1 – 11.82) valor $p < 0.0001$. Cuando se cuantificaron los valores de Fosfatidilinositol la diferencia fue de 4.1 (1.57 – 6.6) con valor $p < 0.004$. Las cifras de fosfatidilglicerol previas a la aplicación del esquema de inductor de madurez pulmonar, fue 0% en todas las pacientes, por lo cual no se pudo realizar una prueba de *t pareada*, y se realizó una prueba *t* para una sola muestra, la cual mostró una media en la concentración de fosfatidilglicerol de 3.15 (1.78 – 4.52) valor $p < 0.0001$.

Posterior a probar que el uso de esteroides como inductores de madurez pulmonar, se quiso determinar si existía diferencia significativa en la modificación en el perfil de fosfolípidos entre los medicamentos utilizados en el estudio, se realizó el análisis con una prueba estadística de *t de student*.

Al comparar el efecto de la betametasona en la relación L/E con respecto al obtenido con la dexametasona, se realizó la prueba de *t de student*, con un valor p en la prueba de F de 0.036 por lo que se asumió que las variables tenían varianzas diferentes, con una diferencia promedio en el efecto de 0.31 (IC al 95% -0.12 a 0.74) valor $p 0.14$, lo que nos indica que no hubo diferencia significativa. Al evaluar la diferencia sobre la concentración de la lecitina precipitable, la betametasona presentó una diferencia promedio de -0.43 (-7.7 a 6.8) valor $p 0.90$, asumiendo varianzas iguales con un valor p en la prueba F de 0.87. En la evaluación de la diferencia en la cuantificación del fosfatidilinositol la prueba F tuvo un valor p de 0.13 (asumiendo varianzas iguales), presentó una diferencia promedio de 0.52 (-4.9 – 5.95) valor $p 0.89$. En lo que respecta al efecto obtenido en el fosfatidilglicerol, la betametasona mostró una diferencia promedio de 0.4 (-2.5 – 3.3) valor p de 0.72 cuando se comparó con el efecto mostrado con el uso de la dexametasona asumiendo varianzas iguales en la

prueba F con valor p de 0.85, sin obtener una diferencia significativa en la modificación del perfil de fosfolípidos al comparar los medicamentos.

Se evaluaron los resultados entre la relación L/E y el fosfatidilglicerol posterior al esquema para determinar la correlación entre las dos variables, se calculó coeficiente de correlación de Pearson el cual fue de 0.81, lo que nos indica que un cambio en la relación L/E reflejará un cambio en el fosfatidilglicerol en forma directamente proporcional (gráfica 2).

De la misma manera se evaluó la correlación entre los resultados en la relación L/E y la concentración de fosfatidilinositol mediante un coeficiente de correlación (Pearson) la cual mostró una correlación inversa al resultar de -3.42, no alcanzando significancia estadística con un valor de p de 0.24 (gráfica 3).

XIV CONCLUSIONES

- Se concluye que ambos inductores presentan un efecto favorable post aplicación ya que tanto la betametasona como la dexametasona incrementaron los valores de la relación L/E, lecitina precipitable, fosfatidilinositol y fosfatidilglicerol.
- La utilización de los medicamentos esteroideos como inductores de la madurez pulmonar fetal de una paciente que cursa con diabetes gestacional sí modifica el perfil de fosfolípidos.
- Al considerar que en el perfil de fosfolípidos los parámetros más significativos que indican madurez pulmonar fetal son la relación L/E y el Fosfatidil glicerol se determina que la aplicación de un esquema de inductor como indicativo de madurez pulmonar incrementa en promedio 0.56 con un incremento mínimo de 0.35 y máximo de 0.79. así mismo el incremento mostrado en el fosfatidil glicerol post aplicación del inductor es de 3.5% con un incremento mínimos de 1.78% y un máximo de 4.52%.
- Al comparar el efecto de la Betametasona y la Dexametasona en la modificación del perfil de fosfolípidos se concluye que estadísticamente no existe diferencia significativa entre uno y otro, para mostrar diferencia se necesitaría incrementar el número de pacientes a 150 en cada grupo para tener diferencia significativa.
- Por último se concluye que la hipótesis nula no se rechaza.

XV. REFERENCIAS

1. Goldenberg L. The management of preterm labor. *Obstet. Gynecol.* Vol. 100 2002:1020-1037.
2. Morales, M. Mendoza, T. Jimenez, M. Escobedo, F. Retraso en la madurez pulmonar fetal en embarazadas complicadas con diabetes gestacional. *Ginecología y Obstetricia de México.* Vol. 73, Num.4, abril 2005: 183-193.
3. Votta, R. Líquido amniótico. *Investigaciones clínicas aplicadas al conocimiento del estado fetal.* Buenos Aires: Médica Panamericana, 1975: 9, 78,79
4. Torres-Pereyra, J. Maturana, A. (noviembre 2001) Maduración Pulmonar Fetal. [www] URL: <http://www.redclinica.cl/html/archivos/18.pdf>.
5. Matrona, L. Moreno, A. (marzo 2005) Líquido amniótico. [www] URL:http://www.med.uchile.cl/apuntes/archivos/2005/obstetricia/liquido_amniotico.pdf
6. Travieso, M. Después de medio siglo de estudio del sistema surfactante pulmonar. *Revista Cubana Investigaciones Biomédicas.* Vol. 25, mayo 2006: 25(2).
7. Lehninger, A. *Bioquímica. Las bases moleculares de la estructura y función celular.* 2º ed, Barcelona: Omega, 1993: 285-314.
8. Devlin, T. *Bioquímica. Libro de texto con aplicaciones clínicas.* Vol. 1 3ª ed. Barcelona: Reverte, 1999: 397-408.
9. Gluck, L. Kulovich, M. Border, R. Brenner, P. Anderson, G. Spellacy, W. Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. *Am. J. Obstet: Gynecol.* 109: 440, 1971.
10. Martin, D. Mayer, P. Rodwell, V. *Bioquímica de Harper.* México: EL Manual Moderno, 1986: 228-233.
11. Schumm, D. *Principios de bioquímica.* México: El Manual Moderno, 1989: 283-290.

12. Gluck, L. Kulovich, M. Lecithin/sphingomyelin ratios in amniotic fluid in normal and abnormal pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 115: 539, 1973.
13. Gluck, L. Kulovich, M. ET AL. The interpretation and significance of the lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 120: 142, 1974.
14. Hallman, M. Kulovich, M. Kirpatrick, R. Phosphatidyl inositol (PI) and phosphatidyl glycerol (PG) in amniotic fluid index of lung maturity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1125: 613, 1976.
15. Socol, M. Sing, E. Depp. R. The tap test: A rapid indicator of fetal pulmonary maturity. *Am J. Obstet. Gynecol.* 148: 445, 1984
16. Clements, J. ET. AL. Assessment of the risk of the respiratory distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. *New. Eng. J. Med.* 286: 1077, 1972.
17. Hallman, M. Gluck, L. Development of the fetal lung. *J, Perinatal. Med.* 5: 3-31, 1977.
18. Ballard P, Ballard R. Cytoplasmic receptor for glucocorticoids in lung of the human fetus or neonate. *Journal Clin. Invest* 1974; 53:477-86.
19. Ahued, R. Prematurez. Un enfoque perinatal. México: Editores de textos mexicanos, 2004:64-88
20. Liggins G, Howie R. A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics* 1972; 50:515.
21. Crowley P, Chalmers I, Keisse MJ. The effects of corticosteroids administration before preterm delivery: an overview of the evidence from controlled trials. *Br J Obstet Gynecol* 1990; 97:11-25.
22. Burriel, F. Lucena, F. Arribas, S. Hernández, J. *Química analítica cualitativa* 17^o ed. Madrid: Paraninfo, 2000: 311-321.
23. Watty, M. *Química analítica.* México: Alambra. 1982: 353-356.
24. Smith, I. Feinberg, A. *Cromatografía sobre papel y capa fina. Electroforesis.* Madrid: Alambra, 1979: 36-41, 179-183.

25. Skoog, D. West, D. James, F. Fundamentos de química analítica. 4^o ed. Barcelona: Reverte, 1997: 665-667, 730-732.
26. Todd. Stanford. Davidson. Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. 8^o ed. Barcelona: Salvat, 1991: 218-220, 236-239.
27. Linch, M. Métodos de Laboratorio 2^a ed. México: Interamericana, 1977: 1190-1198.
28. Anderson, B. Camacho, M. Stark, J. LA familia con hijos: 2. Trastornos de la salud familiar durante el embarazo. México: Trillas, 1980: 463-464.
29. González-Merlov. Lacilla, V. Fabre, E. Obstetricia. Barcelona: Masson, 2006: 518.
30. Información Verbal del Dr. Fernando Escobedo Aguirre.