



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

**EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL
FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL
VASCULAR (VEGF) EN PULMONES DE
CABRAS CON SÍNDROME DE DIESTRÉS
RESPIRATORIO (SDR)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA
P R E S E N T A:**

Sarah Alejandra Gutiérrez Covarrubias

ASESORES:

Dra. Irma Eugenia Candanosa Aranda

M en C. Juan Antonio Rodríguez García



Ciudad Universitaria, Cd.Mx. 2019



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.

Table of Contents

RESUMEN	3
ABSTRACT	4
INTRODUCCIÓN	5
REVISIÓN DE LITERATURA	6
SÍNDROME DE DIESTRÉS RESPIRATORIO (SDR)	6
TIPOS DE SÍNDROME DE DIESTRÉS RESPIRATORIO	7
ESPECIES EN DONDE SE HA DESCRITO	9
HALLAZGOS A LA NECROPSIA E HISTOPATOLOGÍA	9
DESARROLLO PULMONAR	9
FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR	13
JUSTIFICACIÓN	14
HIPÓTESIS	14
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS PARTICULARES	15
MATERIAL Y MÉTODOS	15
A) ESTUDIO RETROSPECTIVO	15
B) ESTUDIO PROSPECTIVO:	15
C) INMUNOHISTOQUÍMICA	16
D) EVALUACIÓN DE RESULTADOS	16
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	22
CONCLUSIONES	26
LITERATURA CITADA	28

EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF) EN PULMONES DE CABRAS CON SÍNDROME DE DIESTRÉS RESPIRATORIO (SDR)

Resumen

El Síndrome de Distrés Respiratorio (SDR) es un estado patológico que se manifiesta principalmente por medio de dificultad respiratoria, poca distensión pulmonar y consecuente hipoxia sistémica. El Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF por sus siglas en inglés) es importante para el desarrollo y maduración de las estructuras pulmonares, por lo que la baja expresión de este factor puede alterar el crecimiento pulmonar de los cabritos y disminuir su capacidad de respuesta a infecciones y alteraciones del medio ambiente. El objetivo del presente estudio fue evaluar la expresión del VEGF en el tejido pulmonar de cabras recién nacidas que murieron a causa del SDR, mediante técnicas de histoquímica e inmunohistoquímica, para describir su relación con la patofisiología de la enfermedad. Se realizó un estudio retrospectivo empleando los archivos de necropsias de la Unidad de Servicios de Diagnóstico y Constatación (USEDICO), de enero de 2009 a agosto de 2015 y para el estudio prospectivo realizando las necropsias de las cabras que murieron de septiembre a diciembre de 2015, eligiendo a las cabras recién nacidas y de hasta 30 días de edad cuya muerte estuviera relacionada con el SDR. En ambos estudios se realizaron cortes de tejido pulmonar empleando las técnicas Ácido peryódico de Schiff (PAS), Hall y Azul alciano, además de la técnica de inmunohistoquímica con el anticuerpo policlonal de VEGF y como grupo control se emplearon tres casos de pulmones caprinos sin alteraciones. Las cabras con SDR presentaron una disminución significativa del VEGF ($P < 0.005$) en relación con el grupo control. Se concluye que las cabras presentan el SDR de manera similar a otras especies y que VEGF tiene menor expresión en los pulmones de cabras que nacen con SDR con respecto al grupo control. Esta conclusión contribuye al conocimiento de esta enfermedad en cabras y aporta para continuar la investigación, ya que no hay datos previos al respecto.

Palabras claves: neonatos, cabras, síndrome de distrés respiratorio, VEGF

Abstract

The Respiratory Distress Syndrome (RDS) is a pathological state that manifests mainly through respiratory distress, little pulmonary distension and consequent systemic hypoxia. The Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) is important for the development and maturation of pulmonary structures, so the low expression of this factor can alter the lungs growth of kids and decrease their ability to respond to infections and alterations of the environment. The aim of the present study was to evaluate the expression of VEGF in the lung tissue of the newborn goats that died due to RDS, by means of histochemical and immunohistochemical techniques, to describe their relationship with the pathophysiology of the disease. A retrospective study was carried out using the necropsy files of the Diagnostic and Verification Services Unit (USEDICO), from January 2009 to August 2015 and for the prospective study, by performing the necropsies of the goats that died from September to December 2015, choosing the newborn goats and up to 30 days of age whose death was related to the SDR. In both studies, lung tissue samples were processed with Peripheral Acid Schiff (PAS), Hall and Alcian Blue techniques, in addition to the immunohistochemical technique with the VEGF polyclonal antibody and three goat lung cases were used as control group. Goats with RDS showed a significant decrease in VEGF ($P < 0.005$) in relation to the control group. It is concluded that goats present RDS in a similar way to other species and that VEGF has lower expression in the lungs of goats that are born with RDS with respect to the control group. This conclusion contributes to the knowledge of this disease in goats and contributes to continue the investigation, since there is no previous data in this regard.

Keywords: neonates, goats, respiratory distress syndrome, VEGF

Introducción

La mortalidad de cabritos es un importante factor de pérdidas económicas en los sistemas de producción (Hernández et al., 2000). En México, la mortalidad promedio es de 8.2%, sin diferencia entre los sistemas extensivos e intensivos. Estas muertes suceden principalmente en los siete primeros días de vida (García, 2011).

El síndrome de distrés respiratorio (SDR) o síndrome de dificultad respiratoria neonatal es producido por la asfixia durante el parto y contribuye sustancialmente a la mortalidad neonatal y perinatal. Las lesiones que provoca son principalmente vasculares, observándose líquido en las cavidades corporales, petequias, congestión visceral grave, y edema en cordón umbilical y placenta. En los animales sobrevivientes se pueden presentar secuelas como hemorragias cerebrales multifocales o generalizadas, e intrapulmonares con distribución multifocal; problemas de desarrollo, pobre crecimiento pulmonar (etapa alveolar, post natal) y daño cerebral debido al mecanismo de hipoxia generalizada (Romero *et al.*, 2004); secuelas que también suelen culminar con la muerte del animal unos días posteriores al nacimiento (Gebb y Shannon, 2000).

Los factores de crecimiento vascular (VGF) son los mayores estimuladores de angiogénesis, producida por su actividad mitogénica en las células endoteliales. Algunos de los VGF son importantes durante la maduración pulmonar e influyen positivamente en el crecimiento de los alveolos pulmonares, actividad demostrada en animales de laboratorio mediante la administración de factores de crecimiento en la cavidad amniótica de los ratones nacidos prematuramente, lo cual puede aumentar la producción de proteína surfactante de los neumocitos tipo 2 (Martínez Burnes *et al.*, 2003), pero se desconoce su actividad en el SDR. Algunas de las especies de producción donde se han reportado muertes por SDR son las vacas, cerdos, borregos, ratas y otros mamíferos (Alonso-Spilbury *et al.*, 2004; Alonso-Spilbury *et al.*, 2005; Martínez Burnes *et al.*, 2002; Karapinar and Dabak, 2008); sin embargo, no existen estudios que reporten esta enfermedad en cabras.

Debido a que la patofisiología del SDR aún no está totalmente descrita, es importante determinar y analizar la actividad de los factores de crecimiento vascular en el recién nacido afectado, con el fin de describir su importancia en este síndrome.

Revisión de literatura

Síndrome de Distrés respiratorio (SDR)

El síndrome de Distrés respiratorio, también llamado Síndrome de Dificultad Respiratoria Neonatal, es un estado patológico que se manifiesta principalmente por dificultad respiratoria, menor distensión pulmonar y consecuente hipoxia sistémica. Ocurre en fetos nacidos prematuros, es decir, nacidos antes de 280 días en humanos, y de 150 días en cabras; en recién nacidos y crías de menos de un mes de vida extrauterina, se le conoce como SDR neonatal. Entre más prematuro es el recién nacido, mayor es la incidencia del SDR (Santamaría, 2002). Entre menor es el tiempo gestacional en la cría, mayores son la incidencia y la gravedad del SDR (Karapinar and Dabak, 2008).

El cuadro clínico comprende quejidos, retracciones intercostales, aleteo nasal, cianosis, aumento de los requerimientos de oxígeno, atelectasia parcial o colapso pulmonar completo, patrón bronquial visible en radiografías, anasarca, hidrotórax y muerte dentro de las primeras 6 horas en los casos graves. El quejido es un mecanismo compensatorio que realiza el recién nacido para aumentar la presión respiratoria final y disminuir el colapso alveolar, y lo realiza gracias al cierre de la glotis, con el objetivo de mantener el volumen pulmonar y el intercambio de gases durante la expiración (Santamaría, 2002). En los sobrevivientes hay atelectasia persistente y dificultad para respirar. Como el pulmón colapsado y ocupado necesita una mayor presión de distensión para ser ventilado, el neonato realiza inspiraciones profundas, pues los alveolos colapsados jalan a los que le rodean, mientras que las fibras elásticas de las paredes limitan el colapso y estabilizan la apertura alveolar (Segarra, 2006). Los recién nacidos con SDR pueden presentar además edema pulmonar, lo que provoca que el pulmón se congestione y se dificulte aún más el intercambio gaseoso. También se disminuye en estos casos la eliminación de líquido pulmonar fetal, contribuyendo a agravar el cuadro de SDR en los sobrevivientes. Los signos alcanzarán su punto máximo entre las 48 y 72 h postparto (Santamaría, 2002).

En las primeras exhalaciones del neonato sano nunca sale un volumen similar de aire al que fue respirado, pues de ser así, los pulmones retornarían a su estado fetal de colapso. Este aire residual en el espacio pulmonar es conocido como volumen tidal, y el evento no sucede de la misma forma en los neonatos con SDR, ocasionado por falta de maduración pulmonar o por falta de surfactante (Santamaría, 2002); los neumocitos tipo II aún no forman suficiente agente tensoactivo para asegurar la estabilidad alveolar, y el volumen tidal en estos casos es en promedio tres veces menor que en el neonato a término. El daño pulmonar no es uniforme en estos casos, sino que se distribuye de manera multifocal, las áreas pulmón menos dañado rebasan su capacidad aérea tratando de compensar la falta de retención del volumen tidal. El SDR se caracteriza morfológicamente por la redistribución de la pérdida aérea pulmonar, pudiendo

provocar excesiva tensión en la pared alveolar del área que está hiperinsuflada para compensar, lo cual puede aumentar el daño tisular pulmonar (Brown *et al.*, 2001). Suceden una serie de eventos para mantener la estabilidad pulmonar y la respiración, como el aumento gradual del volumen tidal dentro de los primeros días (Altman y Dittwer, 2008), la supresión de los estímulos inhibitorios presentes *in utero* y su remplazo por estímulos excitatorios que promueven la respiración, o el aumento en la circulación pulmonar al momento de la primera respiración, que ayuda a la absorción rápida de líquido pulmonar fetal y líquido amniótico (Santamaría, 2002).

La hemoglobina en el feto tiene mayor afinidad por el oxígeno; sin embargo, el feto tiene mayor dificultad para la liberación de oxígeno de la sangre a los tejidos y para el desecho de CO₂, a pesar de que sus requerimientos de oxígeno celular son mayores (Altman y Dittwer, 2008), por lo que los tejidos fetales están más capacitados para soportar la hipoxia que los tejidos adultos. Aun así, la hipoxia provoca desprendimiento de tejido, por lo que este efecto no se hará esperar en recién nacidos con hipoxia prolongada. Además, los centros respiratorios inervan del tejido pulmonar a los músculos respiratorios; y éstos no están completamente desarrollados en un neonato que no llegó al término de su crecimiento en el útero, agravando la insuficiencia respiratoria (Segarra, 2006).

Tipos de Síndrome de Distrés respiratorio

En humanos, el SDR ha sido clasificado en varios tipos, según su causa primaria:

El **SDR tipo I** es también conocido como **enfermedad de la membrana hialina (EMH)**, y es un colapso alveolar múltiple que se debe a la escasez de surfactante a nivel de los neumocitos tipo II, que son quienes lo producen, provocando atelectasia. Se observa en aproximadamente el 10% de los humanos nacidos prematuros, con mayor incidencia en los neonatos de sexo masculino. La frecuencia aumenta en los nacidos por cesárea, en especial si no hubo trabajo de parto, pues el parto fisiológico estimula la secreción endógena de corticoides, que aceleran la maduración pulmonar y la secreción de surfactante (Santamaría, 2002). La enfermedad de la membrana hialina reduce la flexibilidad y ampliación del pulmón al no haber suficiente surfactante para reducir la tensión superficial del pulmón y permitir la entrada adecuada de aire (Santamaría, 2002).

La producción de surfactante disminuye por factores como frío e hipotermia, acidosis, hipovolemia, hipoglicemia, hipoxemia, diabetes mellitus, asfixia y síndrome postperfusión. Los casos mortales de SDR tipo I se incrementan por factores asociados como asfixia, inmadurez, infección, hemorragia intracraneana, transporte neonatal inadecuado, entre otros. El tratamiento indicado para este tipo de SDR es la ventilación mecánica y administración de surfactante (Rodríguez *et al.*, 2000).

El **SDR tipo II** recibe también el nombre de **síndrome de aspiración meconial (AMS)**, por sus siglas en inglés). El SDR puede también presentarse en animales que no

padecen la enfermedad de la membrana hialina, cuando el evento del nacimiento se ve mermado por la distocia u otras dificultades que ocasionan sufrimiento fetal, lo que provoca que el animal se estrese e intente respirar desde antes de salir del canal de parto. Cuando esto sucede, el animal aspira e introduce a sus pulmones material propio del ambiente fetal, como líquido amniótico y meconio, el cual es expulsado del cuerpo del feto a causa del sufrimiento fetal (Rodríguez *et al.*, 2000). Durante el parto distócico, estrés fetal e hipoxia, las arteriolas pulmonares se contraen y provocan hipertensión pulmonar (Segarra 2006), cambiando la distribución sanguínea general y disminuyendo el flujo en las vísceras abdominales, lo que incrementa la peristalsis y relaja el esfínter anal, culminando con la expulsión de meconio en el saco amniótico. La hipoxia local o generalizada es posiblemente el control fisiológico más importante del flujo sanguíneo; si la hipoxia persiste, el animal intenta respirar *in utero* como reflejo natural al momento del nacimiento, donde los quimiorreceptores periféricos y centrales son estimulados con rapidez e intensidad, estimulando los centros respiratorios nerviosos en el tallo cerebral. Esto provoca que introduzca a los pulmones líquido amniótico contaminado con meconio (Martínez-Burnes *et al.*, 2002). En estos casos lo identificamos como Síndrome de aspiración de meconio, y al realizar la necropsia e histopatología, se observará meconio en parénquima pulmonar, tráquea, cavidad nasal y en orofaringe, dependiendo de la gravedad del caso. El meconio en el pulmón induce una reacción inflamatoria moderada alrededor de bronquios y alveolos, por lo cual la inflamación y cantidad de células escamosas se presentarán en diferentes grados. El meconio en los pulmones es detectado en las secciones teñidas con Hematoxilina Eosina (HE) por el color amarillo brillante en que se tiñe. Otra forma de AMS ocurre cuando los neonatos alojan meconio en la hipofaringe, el cual es aspirado con las primeras respiraciones que se dan durante el parto. El conjunto de estos padecimientos se conoce como neumonitis química (Martínez-Burnes *et al.*, 2002). El síndrome de aspiración de meconio y enfermedad de la membrana hialina son las causas más frecuentes de SDR (Rodríguez *et al.*, 2000). En neonatos con historia de síndrome de aspiración de meconio, es común que se reporte hipertensión pulmonar persistente, hipersensibilidad en las vías aéreas, enfermedad respiratoria obstructiva y alto riesgo de infección pulmonar. Recientes investigaciones muestran que el líquido amniótico humano contiene altos niveles de un receptor antagonista de la IL-1, que la bloquea. La IL-1 es uno de los más importantes mediadores químicos de la inflamación aguda. Esto podría confirmar la existencia de un posible factor presente en el líquido amniótico que disminuye y regula la reacción inflamatoria pulmonar en el AMS. En contraste con el fluido amniótico, el meconio induce una reacción inflamatoria aguda, caracterizada por un incremento transitorio pero muy notable de los polimorfo nucleares en los espacios broncoalveolares. Esto se relaciona con el hecho de que el TNF- α , la IL-1 y la IL-8 están relacionadas con daño pulmonar e inflamación en el AMS. A pesar de todo lo anterior, los efectos a largo plazo del AMS aún no están confirmados (Martínez-Burnes *et al.*, 2002).

El **SDR tipo III** se da cuando la causa primaria, es la **inmadurez del tejido pulmonar**. También puede presentarse el síndrome por crecimiento vascular dismórfico y por cese del crecimiento alveolar, que se manifiesta con cantidad baja de alveolos, que serán grandes y con pocos septos. Estas dos últimas variantes del SDR también están relacionadas con la falta de surfactante, y se presentan con mayor frecuencia en neonatos prematuros (Remesal, 2008).

Para referirse al **SDR tipo IV**, es más común utilizar el nombre de **infección pulmonar temprana o neumonía neonatal**.

Especies en donde se ha descrito

El SDR ha sido descrito principalmente en humanos (González-Armengot y Omaña-Alonso, 2006), pero también hay información acerca de esta enfermedad en animales como ratas y ratones (Martínez-Burnes *et al.*, 2003), bovinos (Karapinar y Dabak, 2008), borregos, perros y gatos, conejos (Zagariya *et al.*, 2010), cobayos, cerdos (Mota Rojas *et al.*, 2006) y otros animales domésticos e incluso silvestres.

En los animales sobrevivientes, aunque se ha prestado poca atención a los cambios morfológicos que desarrollan a largo plazo, se sabe que pueden presentar secuelas como hemorragias cerebrales e intrapulmonares, problemas de desarrollo, pobre crecimiento pulmonar (etapa alveolar, post natal) y daño cerebral; secuelas que también suelen desembocar en la muerte del animal unos días posteriores al nacimiento (Gebb y Shannon, 2000).

Hallazgos a la necropsia e histopatología

El SDR generalmente ocasiona la muerte de los animales que la presentan, a la necropsia se observan principalmente lesiones vasculares, como líquido en las cavidades o incluso anasarca, petequias, congestión visceral grave y edema en cordón umbilical y placenta. También pueden encontrarse los pulmones atelectásicos y congestivos, incluso ligeramente hemorrágicos; y cambios en la silueta cardíaca. El edema generado en las paredes alveolares provoca apnea, disminución del gasto cardíaco y de la presión arterial, constricción laríngea y relajación de los músculos esqueléticos, siendo indicador de daño pulmonar grave (Segarra, 2006). Los animales que murieron por SDR tipo II, también presentarán meconio en el cuerpo y cabeza, principalmente en el rostro. El meconio en el ano es un signo importante de sufrimiento fetal, causa por la cual este material es expulsado de los intestinos del neonato antes de tiempo. También se pueden encontrar restos de membranas fetales y sangre en la boca y nariz del animal, que hayan impedido la respiración al obstruir o tapan los conductos nasales, habiéndole provocado asfixia (Rodríguez y Castañeda., 2000).

Desarrollo pulmonar

Desde la gestación, los mamíferos desarrollan diferentes estructuras orgánicas para cumplir con las funciones fisiológicas necesarias para vivir, como la alimentación y la

respiración. Esta última, que comienza a suceder en los pulmones desde el momento del nacimiento, tiene la función de obtener aire para realizar a través de los capilares sanguíneos la oxigenación de la sangre, la cual lleva el oxígeno obtenido a todas las células que conforman las estructuras del organismo, y con ello promueve el correcto desempeño de todos los sistemas y aparatos que forman al individuo. Lo anterior es posible cuando los órganos y estructuras involucradas en la oxigenación, como los pulmones, corazón y vasos sanguíneos, se encuentran en un estado óptimo para trabajar; lo cual implica que las estructuras que los componen deben formarse y madurar completamente y dentro de los tiempos establecidos según la especie a la que pertenezcan (García y Gil, 2012). En este proceso tienen un papel fundamental los factores, tanto internos como externos, que influyen en el desarrollo del individuo, tales como la nutrición, los estímulos ambientales, la genética, entre otros; los cuales contribuyen a la producción de los componentes bioquímicos necesarios en el individuo para desencadenar el crecimiento, diferenciación celular y otros eventos. Son precisamente estos componentes los que marcan la pauta en la formación de las estructuras y su crecimiento, siendo señalizadores e iniciadores en diversos procesos. Su expresión en las diferentes células de los tejidos en formación depende también de los tipos de tejidos que cada órgano necesite desarrollar en sus diferentes secciones, lo cual es determinado por la información genética propia del individuo y de cada célula en específico (Remesal, 2008).

El tiempo requerido para alcanzar la madurez en los tejidos del mamífero varía de acuerdo con la especie y el sistema al que se refiera, pues cada órgano lleva un proceso específico y ordenado en el cual va desarrollando y madurando las estructuras que lo componen según las necesidades de cada especie. Cuando las estructuras no crecen al tamaño normal según su raza y especie de la forma esperada, el efecto es llamado hipoplasia, que por definición es la falla de un órgano por no haberse desarrollado a su tamaño normal, y puede ocurrir antes del nacimiento o poco después de este (Miller y Zachary, 2017), en el caso de órganos que continúan su crecimiento luego del parto, como es en los pulmones. Todos los tejidos del cuerpo del mamífero proceden de tres hojas embrionarias principales a partir de las cuales se forman los órganos; estas hojas son: ectodermo, mesodermo y endodermo, que se ubica del lado ventral del tubo digestivo y a partir de la cual se origina la porción pulmonar del epitelio respiratorio. El extremo superior de la hoja embrionaria se amplía y diferencia para luego ramificarse, creciendo dos ramas iniciales hacia atrás y otras dos hacia el frente y por el centro; las dos ramas que crecen lateralmente y hacia atrás se desarrollan y ramifican hasta definir los bronquios y pulmones, la porción distal se manifiesta inicialmente por medio de la canaladura laringotraqueal u orificio laríngeo, que se ubica en el extremo caudal de la pared central de la faringe. El revestimiento endodérmico de la canaladura laringotraqueal origina el epitelio y las glándulas de la laringe, tráquea y bronquios, además del epitelio que reviste a los pulmones (García y Gil, 2012). La parte inferior de la tráquea se divide en la zona de la carina en dos bronquios

principales: derecho e izquierdo, que se bifurcan en forma sistemática e irregular en conductos cada vez más pequeños hasta llegar a la superficie respiratoria de los alveolos, formando el árbol traqueobronquial. Entre más angostas se hacen las vías respiratorias, son más numerosas, ocupando el área máxima de la superficie alveolar en un volumen mínimo (Segarra, 2006). El tejido conectivo, cartílago y músculo liso de estas estructuras, se desarrolla a partir del mesénquima esplácnico o visceral.

Como resultado de la ramificación abundante de los bronquios, del desarrollo de numerosas vesículas pulmonares y gracias a la diferenciación tisular específica, se crea el tejido pulmonar (García y Gil, 2012). La ramificación podemos acomodarla de menor a mayor en: Tráquea-bronquios-bronquiolos-bronquiolos respiratorios-alveolos, y la división pulmonar en: pulmones- lóbulos pulmonares- lobulillos. El desarrollo de los pulmones con los alveolos pulmonares sucede en los estadios tempranos del desarrollo, y continúa aún después del nacimiento, de manera que se han determinado ocho fases en el desarrollo pulmonar, las que se agrupan en desarrollo fetal y desarrollo postnatal según la etapa en la que suceda (Íñiguez y Sánchez, 2009). La última fase del desarrollo pulmonar fetal consiste en la formación de alveolos a partir de los sáculos respiratorios inmaduros producidos en la fase sacular del desarrollo pulmonar fetal; lo cual sucede por medio de septación, maduración de unidades epiteliales y mesenquimales y el desarrollo del sistema capilar alveolar (Haworth y Hislop, 2003). Los alveolos no son precisamente globulares. Son cavidades con orificios, que se conectan a los orificios de otros alveolos adyacentes. Estos orificios se llaman Poros de Kohn. En ellos hay macrófagos, una capa de células ciliadas que transportan moco, y las células secretoras de este moco. Debajo de la capa de células ciliadas, se encuentra la capa submucosa, que contiene los capilares sanguíneos y los vasos linfáticos, las fibras nerviosas, glándulas submucosas secretoras de moco y otras células; posteriormente, se encuentra el músculo liso (Segarra, 2006). El proceso de alveolización requiere componentes fibroblásticos, epiteliales, microvasculares y pulmonares, y la interacción de todos estos con la matriz extracelular; por lo que cualquier defecto en la expresión de alguno de estos componentes o su ausencia, tendrá repercusiones en todo el desarrollo alveolar, pudiendo éstos no cumplir su función orgánica y desencadenar la muerte del individuo por hipoxia (Warburton *et al.*, 2000). Una adecuada producción de los factores de crecimiento vascular por parte de las células epiteliales respiratorias, y la expresión suficiente de sus receptores, promueve el adecuado desarrollo alveolar, asegurando su funcionalidad (Voelkel *et al.*, 2006). A nivel alveolar habrá capas de células endoteliales capilares y epiteliales alveolares. El epitelio o pared alveolar está formado por células planas de tipo I y II que producen y secretan surfactante, el cual es un fosfolípido a base de lecitina dipalmitol, con propiedades tensoactivas parecidas a las de un detergente, que ayuda a impedir el colapso alveolar manteniendo la baja tensión superficial de la interfase. Este surfactante se extiende sobre la superficie alveolar y los conductos bronquio alveolares, cuando es escaso, se requiere mayor nivel de presión para conseguir

distender el tejido pulmonar, pues se necesitan de por sí presiones altas para la dilatación inicial de los alveolos, pues su radio es pequeño, además de que la primera respiración es la que marca la pauta para la expulsión del líquido pulmonar fetal que queda después de la compresión del tórax en el canal de parto, por lo que requiere mucha fuerza. La presión y la fuerza requerida para la respiración disminuyen cuando los pulmones ya se han expandido. La presencia de surfactante disminuye la contribución de la tensión superficial a la curva de adaptabilidad total, y por lo tanto disminuye la presión requerida para dar a los alveolos una apertura alveolar crítica. Si el animal nace antes del tiempo en el que comienza la secreción de surfactante, presentará disnea por deficiencia de este. En humanos que nacen con esta condición, se utilizan glucocorticoides para aumentar la producción y secreción de surfactante (Segarra 2006).

El desarrollo vascular en el pulmón es otro proceso determinante en la maduración de la estructura pulmonar, y sucede de manera paralela al desarrollo del tejido alveolar, aunque la madurez de los vasos se consigue antes del nacimiento (Íñiguez y Sánchez, 2009; Morrissey y Brigid, 2010). El sistema circulatorio, tanto sanguíneo como linfático, procede del mesoderma (García y Gil, 2012). Los capilares sanguíneos forman lechos con una red de vasos de pared delgada en la superficie alveolar, donde se intercambian gases, nutrientes, desechos metabólicos, entre otros materiales. Estos capilares pasan entre todos los tejidos para conservar las actividades metabólicas normales, de manera que existen dos circuitos en el sistema cardiovascular: el circuito pulmonar y el sistémico, los cuales se componen de arterias, venas y capilares. Por su amplio lecho vascular, los pulmones tienen una gran superficie de células capilares endoteliales en donde se realizan diversas actividades metabólicas, como la captación y destrucción de sustancias residuales en la sangre y el reabastecimiento de esta con otras sustancias como la vasopresina, que circula a través de los pulmones y la angiotensina II, que se forma en los pulmones a partir de la angiotensina I (Segarra, 2006). La circulación está estrechamente relacionada con la respiración. En la superficie respiratoria, la sangre y el aire están en íntimo contacto, separados sólo por dos capas muy delgadas de células (García y Gil, 2012). Es a través de los vasos sanguíneos y la red capilar pulmonar que se hace el intercambio gaseoso y se optimiza la sangre que circulará por las arterias para repartir el oxígeno a cada célula (Segarra, 2006), por lo que, para que se complete el crecimiento y desarrollo funcional de los vasos sanguíneos primarios, también llamado proceso de vasculogénesis, y la formación de vasos sanguíneos secundarios a partir de los primeros o proceso de angiogénesis, el tejido en formación debe contar con la expresión de los componentes bioquímicos necesarios para que se lleve a cabo dicho proceso, como los factores de crecimiento y el Factor inductor de hipoxia (Warburton D *et al.*, 2000). Para formar un nuevo vaso sanguíneo, los componentes del entorno de la matriz extracelular endotelial son degradados localmente por proteasas producidas por la propia célula endotelial, luego ocurre la migración quimiotáctica de células endoteliales hacia el

lugar donde se va a desarrollar en nuevo vaso sanguíneo, lo cual va dando forma a la nueva estructura. El nuevo vaso sufre anastomosis con el vaso adyacente para ser perfundido con circulación sanguínea, y finalmente se da paso a la acumulación de la lámina basal y recubrimiento por pericitos y células del músculo liso para maduración y fortalecimiento del nuevo vaso (Martínez-Burnes *et al.*, 2002).

Factor de crecimiento endotelial vascular

Existen diversos factores de crecimiento con funciones específicas dentro del desarrollo y mantenimiento de los tejidos, como por ejemplo la maduración pulmonar, donde tienen diversos efectos, como aumentar el tamaño de los pulmones. El proceso de formación y desarrollo del feto se ve estimulado en su mayor parte por los Factores de Crecimiento Vascular (VGF), que se caracterizan por tener una potente actividad mitogénica en las células endoteliales, siendo los mayores estimuladores de la angiogénesis, la cual es indispensable para la oxigenación de los tejidos, pues son los vasos sanguíneos capilares los que transportan la sangre oxigenada a cada célula, y lo proporcionan mediante la acción de los eritrocitos (Voelkel *et al.*, 2006).

Entre todos estos factores involucrados en la formación y desarrollo fetal, destaca para interés de este estudio el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular, VEGF por sus siglas en inglés, ya que es el que marca la pauta para la formación de los vasos sanguíneos y de los epitelios bronquial, bronquiolar y alveolar, y por lo tanto determina el estado de maduración pulmonar en el animal por nacer. Este factor es un mitógeno específico de células endoteliales que ejerce su acción a través de dos receptores tirosina-quinasa. Su expresión se limita a las células endoteliales, monocitos y precursores hematopoyéticos (Voelkel *et al.*, 2006). Actúa en todos los vasos sanguíneos, pero su acción en el tejido pulmonar involucra además la maduración alveolar (Brown *et al.*, 2001). Su efecto sobre las células del tejido endotelial vascular de los pulmones se ve favorecido por ciertos estímulos físicos, como los movimientos respiratorios del feto, por ejemplo, y se limita o inhibe al recibir ciertos estímulos, principalmente químicos, como el del factor de crecimiento de transformación β (TGF- β , por sus siglas en inglés), que produce el efecto antagónico al VEGF. Cabe mencionar que el VEGF, descubierto a finales de los 80's y principio de los 90's, no es un solo factor, sino que es una familia; llamada así porque existen múltiples variedades con actividades relativamente similares y con potencias variables, llamadas Splice Forms, y que son producto de la variación en el gen de la neuropilina-1, que puede variar entre gen np1 o Antígeno AS, y gen np2 (Simons y Rubanyi, 2007). De esta forma, el VEGF tiene cinco variedades: VEGFa, VEGFb, VEGFc, VEGFd y el recién descubierto VEGFe (Voelkel *et al.*, 2006). De los anteriores, el más común es el VEGFa, el cual además es el que cumple la mayor cantidad de funciones, como la movilización de los precursores de médula ósea, ser surfactante metabólico en los neumocitos tipo II y el crecimiento y diferenciación de células endoteliales, función por la cual se relaciona directamente y de manera protagónica en la formación de nuevos

vasos sanguíneos (Simons y Rubanyi, 2007).

Los receptores específicos para las moléculas de la familia VEGF son capaces de distinguir entre las distintas variedades, sin embargo, estos distintos VEGF actúan a la par sobre receptores tirosina-kinasa, también llamados VEGFR-1 y VEGFR-2, que no diferencian entre estas variedades de VEGF (Voelkel *et al.*, 2006). Uno de sus mecanismos más frecuentes es el brote de un nuevo vaso sanguíneo a partir de otro ya existente, pero también está presente en otros procesos como el desarrollo embrionario en vida fetal y en vida adulta en el ciclo ovárico en el caso de las hembras (desarrollo folicular y del cuerpo lúteo), además de tener un papel importante en el desarrollo y crecimiento de los tumores (Rodríguez *et al.*, 2000).

La escasez o ausencia de expresión del VEGF en el tejido vascular y/o alveolar de los pulmones, lo que generalmente se define en la fase canalicular del desarrollo pulmonar, se reflejará en la maduración pulmonar del feto, el cual puede producir la enfermedad de la membrana hialina o displasia broncopulmonar, que se presenta generalmente en pulmones no maduros, ocasionando que el feto al nacer presente atelectasia, dificultad respiratoria, asfixia durante el parto, hipoxemia y acidosis metabólica como consecuencia de lo anterior, llevando al animal a la muerte en gran porcentaje de los casos. Todo este conjunto de signos y complicaciones es llamado SDR (Gebb y Shannon, 2000; Voelkel *et al.*, 2006).

Justificación

Al no disponer de estadísticas de mortalidad por SDR en caprinos recién nacidos, se ha recurrido a estimaciones con base a encuestas y registros creados por las personas interesadas en un grupo específico para intentar conocer algunos aspectos de enfermedad.

Es importante determinar la mortalidad y causas asociadas a SDR en cabritos; así como contribuir en la patofisiología de SDR observando la actividad VEGF en el tejido pulmonar, y establecer su importancia.

Hipótesis

- 1.-El SDR se presenta en las cabras domésticas de manera similar a otros mamíferos domésticos.
- 2.-Los pulmones de cabritos recién nacidos que cursan con SDR tienen una baja expresión de VEGF en el tejido pulmonar, lo que se relaciona con la falta de maduración vascular, bronquial y alveolar, así como la consecuente presentación de lesiones en el tejido respiratorio del neonato, tal cual sucede en otros mamíferos como los humanos.

Objetivo general

Realizar un estudio retrospectivo y prospectivo de las necropsias realizadas en la Unidad de Servicios en Diagnóstico y Constatación (USEDICO) del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Animal en Altiplano (CEIEPAA) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), para obtener los casos de muertes neonatales, perinatales y en lactantes de hasta 30 días asociadas con SDR en cabras, y determinar la expresión del VEGF en los pulmones como un marcador indirecto de hipoxia pulmonar.

Objetivos particulares

Describir la presencia de SDR en cabras de los archivos de diagnóstico de necropsias de la USEDICO, FMVZ-UNAM, mediante un estudio retrospectivo de enero de 2009 a julio de 2015, y un estudio prospectivo de agosto a diciembre de 2015.

A partir de las necropsias asociadas a SDR y de los cortes de tejido seleccionados en el retrospectivo, evaluar la expresión del VEGF en el tejido pulmonar como marcador indirecto de hipoxia, y aplicar técnicas de histoquímica para establecer su importancia en la patofisiología de la enfermedad.

Material y Métodos

a) Estudio retrospectivo

Se realizó el estudio empleando los archivos de necropsias de la USEDICO de enero de 2009 hasta agosto de 2015, obteniendo datos como el total de necropsias realizadas por especie, edades, diagnóstico y raza. Se establecieron como prioridad para el estudio a las cabras recién nacidas y de hasta 30 días de edad; para lo cual se revisaron las hojas de trabajo, registros de la sala de necropsias y de resultados, corroborando el diagnóstico final y revisando los hallazgos patológicos, como meconio en piel y ano, membranas fetales, atelectasia, entre otros. En el criterio de inclusión se definió que por lo menos uno de los hallazgos a la necropsia o al análisis histopatológico coincidiera con los descritos en SDR.

b) Estudio prospectivo:

De septiembre a diciembre de 2015 se realizaron las necropsias de las cabras recién nacidas, nacidas prematuras (sólo en caso de estar en último tercio de gestación, lo cual se comprobó previo a la necropsia revisando los registros y la historia clínica) y hasta los 30 días de edad. Al realizar la necropsia, se prestó especial atención a la presencia de meconio y restos fetales en la piel y orificios naturales, como ano y fosas nasales, registrando los hallazgos en un esquema y expresando los resultados en porcentaje (anexo 1). Se revisaron minuciosamente los pulmones, para luego tomar una muestra de 1 cm³ aproximadamente de cada uno de los lóbulos pulmonares (Martínez-Burnes *et al.*, 2002), los cuales estuvieron identificados durante todo el proceso; se fijaron en formalina amortiguada durante 24 h para luego incluirlos en

casetes plásticos identificados con el número de caso, y después continuar con el procesamiento por el método de inclusión en parafina en un procesador automático de tejidos marca Leica, Modelo TP1020.

De los casos del retrospectivo y prospectivo, se realizaron cuatro cortes de cada uno de los bloques de parafina que contienen tejido pulmonar, y se colocaron en laminillas convencionales para realizar las técnicas de histoquímica hematoxilina eosina (HE), ácido peryódico de Schiff (PAS), azul alciano (AA) y Hall (AFIP, 1968). Se realizaron también otros cortes de cada bloque y se colocaron en laminillas electrocargadas para la IHQ.

c) Inmunohistoquímica

Se estandarizó la prueba de estreptovidina peroxidasa empleando el VEGF, siguiendo el protocolo del fabricante (Rabbit Anti-Human VEGF Polyclonal Antibody, Springer biosciences, catálogo E2610), con el kit HRP polivalente y sistema diamino bencidina (anexo 2 y 3), empleó placenta de cabra como control positivo y negativo la misma placenta sin el anticuerpo primario. Se emplearon como grupo control los pulmones de tres cabras recién nacidas, sin lesiones patológicas microscópicas, procesadas de la misma manera que se refiere anteriormente.

d) Evaluación de resultados

Se evaluaron todos los cortes de pulmón teñidos con histoquímica mediante microscopio óptico considerando el grado de positividad en ligero, moderado y grave. La evaluación de la inmunohistoquímica del VEGF se realizó identificando la positividad de la reacción en grado (color amarillo ocre ligero, moderado o intenso), así como señalando las estructuras específicas donde se presentó. Los resultados se capturaron en cuadros.

Los resultados se analizaron con diseño completamente al azar, los datos con el procedimiento GLM (SAS, 2004), y las medias se compararon por prueba de media de Tukey (Steel *et al.*, 1997), empleando el paquete estadístico SAS versión 9.1, 2004. Se empleó estadística paramétrica para los estudios prospectivo y retrospectivo.

Resultados

Se realizó un estudio retrospectivo que abarca de enero de 2009 a agosto de 2015; y el estudio prospectivo de septiembre a diciembre de 2015. Con fines prácticos, la información que a continuación se describe incluye el periodo de 2009 a 2015. Posteriormente, se dividirá la información, de acuerdo con el procesamiento y resultados de las muestras.

Lo descrito en los archivos del laboratorio de patología de la USEDICO, CEIEPAA-FMVZ, UNAM; durante el periodo 2009 a 2015 refiere que fueron realizadas 966 necropsias, de las cuales 453 correspondieron a cabras (47%); las razas observadas fueron Alpina Francesa (229 casos), Toggenburg (106 casos), Saanen (52 casos), Böer (25 casos), cruza (28 casos), y en 13 cabras no se refiere la raza. Se obtuvieron 89 necropsias de cabras de 0 a 30 días de edad que se clasificaron de acuerdo a su

diagnóstico (anexo 4), de los cuales 64 casos (71.9%) tenían resultados asociados con síndrome de distrés respiratorio, 10 casos (11.2%) de septicemia, 7 casos (7.9%) de neumonías, 4 casos (4.5%) de inanición- exposición, 2 casos de traumatismo (2.3%), un caso (1.1%) de colibacilosis, y un caso donde no se refirió el diagnóstico (1.1%). Se consideró como síndrome de distrés respiratorio a los siguientes diagnósticos: aspiración de meconio, aspiración de líquido amniótico, atelectasia, membranas hialinas, sufrimiento fetal, inmadurez pulmonar y como tal, síndrome de distrés respiratorio.

Se obtuvieron 38 datos de madres de los cabritos con SDR de 2009 a 2015, donde la cabra 286 aparece en tres ocasiones; y la R-68, U73, W-29, W-59 y Y-64 aparecen en dos, es decir, cada una de ellas fue madre de dos de los cabritos incluidos en el estudio. De estos animales, solo 16 tienen registrados datos acerca del número de partos que llevan, el número de parto del que proviene el animal incluido en el estudio (según fecha de muerte), y en número de animales al parto promedio (Cuadro 1).

Cuadro 1. Información de las madres de los cabritos con SDR. CEIEPAA, FMVZ-UNAM. 2009-2015		
Número de partos	Hembras	Promedio crías x parto
1	4	2
2	3	2.3
3	2	2
4	3	1.33
5	4	1.75

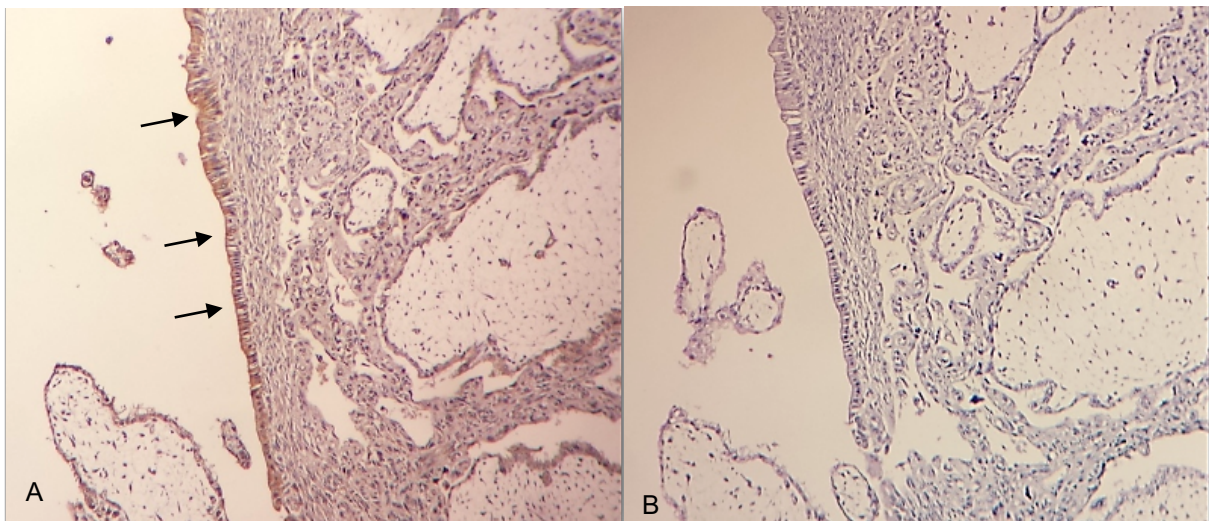


Figura 1. A. Placenta de cabra. Inmunopositividad a VEGF en el citoplasma de células trofoblásticas (flecha) en el control positivo; B. control negativo sin anticuerpo primario. Placenta de cabra. Estreptovidina peroxidasa. Magnificación 4x.

En el estudio retrospectivo se emplearon 35 casos que cumplieron con el criterio de inclusión. Las edades de los cabritos fueron de prematuros a 15 días de nacidos, de

diferentes razas y cruas (Anexo 5).

Se clasificaron los hallazgos de histoquímica e inmunohistoquímica correspondientes de los cabritos del estudio retrospectivo, de acuerdo con el grado de intensidad de la reacción; lo cual se comparó con los controles. Para el VEGF se empleó placenta de cabra como control positivo y negativo la misma placenta sin el anticuerpo primario (Figura 1).

Se observaron diferencias estadísticas en los pulmones con SDR teñidos con PAS, donde hubo mayor positividad ($P=0.0117$) (Cuadro 2). Con respecto al VEGF, se detectó menor presencia del factor en los pulmones con SDR en comparación con los controles en el epitelio bronquial ($P=0.0422$), muscular del bronquio ($P=0.0067$), epitelio bronquiolar ($P=0.0017$), muscular bronquiolar ($P<0.0001$), neumocitos ($P=0.0103$), endotelio vascular ($P<0.0001$) y muscular de los vasos sanguíneos ($P<0.0001$) (Cuadro 3).

Cuadro 2. Evaluación histoquímica de pulmones caprinos con Síndrome de distrés respiratorio. Estudio retrospectivo 2009- agosto 2015.

Variable	Control	Retrospectivo	EEM	Pr>F
Tinción PAS	1.0000b	1.8286a	0.2219	0.0117
Tinción AA	0.5714a	0.7143a	0.2010	0.6181

a, b: medias con distinta literal dentro de la misma fila, son diferentes ($P<0.05$).
EEM: Error Estándar de la Media

Cuadro 3. Evaluación del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular en pulmones caprinos con síndrome de distrés Respiratorio. Estudio retrospectivo 2009- agosto 2015.

Variable	Control	Retrospectivo	EEM	Pr>F
Epitelio bronquial	3.0000a	2.1143b	0.2984	0.0422
Muscular bronquial	3.0000a	1.9429b	0.2614	0.0067
Epitelio bronquiolar	3.0000a	1.8857b	0.2340	0.0017
Muscular bronquiolar	3.0000a	1.6286b	0.2180	<0.0001
Neumocitos	1.0000a	0.3429b	0.1725	0.0103
Endotelio vascular	3.0000a	1.2000b	0.2602	<0.0001
Muscular de los vasos	3.0000a	1.2000b	0.2602	<0.0001

a, b: medias con distinta literal dentro de la misma fila, son diferentes ($P<0.05$).
EEM: Error Estándar de la Media

Para el estudio prospectivo se obtuvieron 12 casos con SDR, los cuales cumplieron con el criterio de inclusión antes mencionado, de manera que los cabritos incluidos iban de los 0 a los 7 días de nacidos. Los datos de estos animales se describen en el anexo 6. Durante las necropsias se describieron las lesiones que están asociadas con el proceso del SDR, revisando la piel y orificios naturales donde se presentó meconio y otros restos fetales. La región anal fue la zona más teñida con meconio (42%),

siguiendo los miembros pélvicos (25%), dorso y tórax (25%), y rostro y hombros (17%) (Anexo 7 y 8).

Se ordenaron también las lesiones sistémicas encontradas que fueran compatibles con SDR, como colapso pulmonar y edema, siendo el hidrotórax la lesión con mayor incidencia, presentándose en un 58% de los casos; seguida del colapso pulmonar completo, hidroperitoneo y anasarca con 50% de incidencia.

De acuerdo con las observaciones microscópicas realizadas en las muestras de pulmón teñidas con HE, se dividieron los hallazgos según el tipo de material encontrado en el tejido pulmonar, y se indicó usando la escala del 0 al 3 de acuerdo a la cantidad de éste que se observó en cada lóbulo pulmonar. Estos resultados se simplificaron obteniendo el promedio para cada caso (anexo 9), para luego compararlos con los controles (cuadro 4) y entre pulmones (Cuadro 5). Se observaron diferencias estadísticas en el pulmón izquierdo con respecto al contenido de bacterias, en el cual no se encontraron ($P=0.0083$).

Cuadro 4. Evaluación microscópica del tejido pulmonar teñido con HE. Estudio prospectivo, septiembre- diciembre 2015.

Variable	Control	Prospectivo	EEM	Pr>F
Células Epiteliales	0.7143a	1.2917a	0.2197	0.0806
Meconio	0.0000a	0.6417a	0.2401	0.0760
Inmadurez	0.0000a	0.6000a	0.2433	0.0993
Líquido amniótico	0.2857a	0.3833a	0.1931	0.7251
Membrana hialina	0.5714a	0.7917a	0.2504	0.5422
Congestión	0.5714a	1.1667a	0.2663	0.1324
Edema	0.0000a	0.6500a	0.7799	0.0967
Leche	0.0000a	0.2000a	0.1100	0.2159
Bacterias	0.0000a	0.0583a	0.0373	0.2842
Células inflamatorias	0.1429a	0.0167a	0.0763	0.2580

a, a: medias con la misma literal dentro de la misma fila, son similares ($P>0.05$).
EEM: Error Estándar de la Media

Cuadro 5. Evaluación microscópica del tejido pulmonar teñido con HE. Pulmón derecho vs pulmón izquierdo. Estudio prospectivo, septiembre a diciembre 2015.

Variable	Pulmón derecho	Pulmón izquierdo	EEM	Pr>F
Células Epiteliales	1.3a	1.3a	0	0
Meconio	0.6750a	0.7667a	0.0447	0.2062
Inmadurez	0.6250a	0.6333a	0.0288	0.8457
Líquido amniótico	0.4500a	0.2000a	0.0724	0.0587
Membrana hialina	0.7000a	0.9333a	0.711	0.0680
Congestión	1.1500a	1.1667a	0.0956	0.9067
Edema	0.7250a	0.6333a	0.0562	0.3010
Leche	0.2500a	0.2000a	0.0418	0.4366
Bacterias	0.1250a	0.0000b	0.0209	0.0083
Células inflamatorias	0.0000a	0.0667a	0.0395	0.2856

a, b: medias con distinta literal dentro de la misma fila, son diferentes ($P<0.05$).
EEM: Error Estándar de la Media

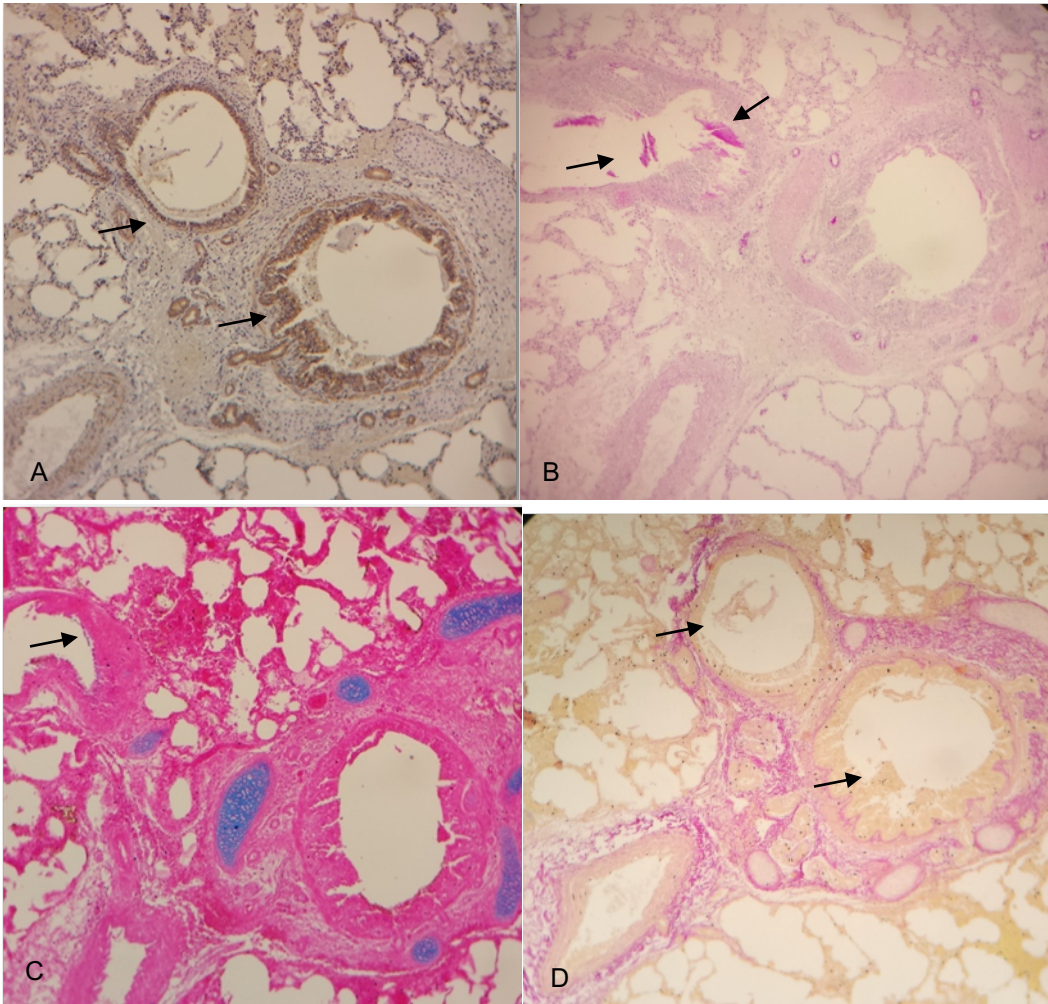


Figura 2. A. Pulmón de cabrito procesado con inmunohistoquímica e histoquímica. A. Inmunopositividad a VEGF en el citoplasma de células bronquiales (flecha). B. Material intrabronquial positivo a PAS. C. Material intrabronquial ligeramente positivo a Azul Alciano. D. Material intrabronquial negativo a Hall. Magnificación 10x.

Se clasificaron los hallazgos de histoquímica e inmunohistoquímica correspondientes a los cabritos del estudio prospectivo de acuerdo con la estructura evaluada del tejido pulmonar, y las observaciones se registraron según el grado de intensidad de la reacción del anticuerpo (Figura 2), lo cual se comparó con los controles y entre pulmones. No se observaron diferencias estadísticas en ninguna de las tinciones especiales al comparar los controles contra el prospectivo (Cuadro 6), sin embargo, se observaron diferencias estadísticas en los pulmones izquierdos con SDR teñidos con PAS (Cuadro 7), donde hubo mayor positividad ($P < 0.0001$). Con respecto al VEGF, se detectó menor presencia del factor en el epitelio bronquial ($P = 0.0009$), muscular del bronquio ($P < 0.0001$), epitelio bronquiolar ($P < 0.0001$), muscular bronquiolar ($P < 0.0001$), neumocitos ($P = 0.0005$), endotelio vascular ($P < 0.0001$) y muscular de los vasos sanguíneos ($P < 0.0001$) (Cuadro 8). No hubo diferencias estadísticas entre pulmones derechos y pulmones izquierdos en lo que respecta a la evaluación del

VEGF (cuadro 9).

Cuadro 6. Evaluación histoquímica de pulmones caprinos con Síndrome de distrés respiratorio. Estudio prospectivo, septiembre- diciembre de 2015.

Variable	Control	Prospectivo	EEM	Pr>F
Tinción PAS	1.0000a	0.8667a	0.2081	0.6562
Tinción AA	0.5714a	0.3917a	0.1505	0.4100

a, a: medias con la misma literal dentro de la misma fila, son similares (P>0.05).
EEM: Error Estándar de la Media

Cuadro 7. Evaluación histoquímica de pulmones caprinos con Síndrome de distrés respiratorio. Estudio prospectivo, septiembre- diciembre de 2015. Pulmón derecho vs pulmón izquierdo.

Variable	Pulmón derecho	Pulmón izquierdo	EEM	Pr>F
Tinción PAS	0.8000b	0.9000a	0	<0.0001
Tinción AA	0.3250a	0.4667a	0.0658	0.1111

a, b: medias con distinta literal dentro de la misma fila, son diferentes (P<0.05).
EEM: Error Estándar de la Media

Cuadro 8. Evaluación del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular en pulmones caprinos con síndrome de distrés Respiratorio. Estudio prospectivo, septiembre-diciembre 2015.

Variable	Control	Prospectivo	EEM	Pr>F
Epitelio bronquial	3.0000a	1.7167b	0.2257	0.0009
Muscular bronquial	3.0000a	1.3417b	0.1836	<0.0001
Epitelio bronquiolar	3.0000a	1.0750b	0.2403	<0.0001
Muscular bronquiolar	3.0000a	0.6500b	0.1770	<0.0001
Neumocitos	1.0000a	0.3167b	0.1135	0.0005
Endotelio vascular	3.0000a	1.1333b	0.1803	<0.0001
Muscular de los vasos	3.0000a	0.9250b	0.1399	<0.0001

a, b: medias con distinta literal dentro de la misma fila, son diferentes (P<0.05).
EEM: Error Estándar de la Media

Cuadro 9. Evaluación del Factor de Crecimiento Endotelial Vascular en pulmones caprinos con síndrome de distrés Respiratorio. Estudio prospectivo, septiembre-diciembre 2015. Pulmón derecho vs pulmón izquierdo.

Variable	Pulmón derecho	Pulmón izquierdo	EEM	Pr>F
Epitelio bronquial	1.6750a	1.8000a	0.1295	0.5252
Muscular bronquial	1.4000a	1.2333a	0.0986	0.2856
Epitelio bronquiolar	1.1750a	0.9667a	0.1008	0.2037
Muscular bronquiolos	0.7250a	0.5667a	0.0562	0.1030
Neumocitos	0.3250a	0.2667a	0.0288	0.2108
Endotelio vascular	1.2250a	0.9667a	0.2098	0.4236
Muscular de los vasos	0.9500a	0.9333a	0.1315	0.9321

a, a: medias con la misma literal dentro de la misma fila, son similares (P>0.05).
EEM: Error Estándar de la Media

Discusión

El SDR se presenta en las cabras domésticas de manera similar a otros mamíferos domésticos (Alonso-Spilbury et al., 2004; Alonso-Spilbury et al., 2005; Martínez Burnes et al., 2002; Mota-Rojas *et al.*, 2005; Karapinar and Dabak, 2008; Bleul, 2009; Zagariya et al., 2010), no existiendo reportes anteriores en cabras. En el presente estudio, la principal causa de muerte en cabritos de 0 a 15 días fue el SDR en todas sus variantes. Cabe mencionar que la clasificación utilizada para el SDR está basada en las características del padecimiento en neonatos humanos, considerando que estos son evaluados al nacimiento a través de una escala conocida como Apgar (Apgar, 1962). No existe una clasificación similar para el SDR en ninguna de las especies animales, por lo que el uso de esta en ausencia de una específica permite describir ordenadamente las variantes en la presentación del SDR. En un estudio realizado con la mortalidad de cabritos en distintas producciones lecheras del altiplano mexicano se menciona que el porcentaje de mortalidad en cabritos recién nacidos fue del 8.2% y el 4.2% de los fetos se perdió en abortos (García, 2011); siendo la muerte fetal y la enteritis las principales causas de muerte en los cabritos. Otra de las principales causas de los decesos en cabras de 0 a 30 días son los problemas respiratorios, de las cuales la más frecuente es la neumonía, complicación que se agrava principalmente con las condiciones de alojamiento, clima, características geográficas, manejo sanitario de las instalaciones y los animales (García, 2011). Algunas de estas muertes posiblemente se debieron a una complicación infecciosa en animales sobrevivientes al SDR neonatal, como sucede en otras especies (Mota-Rojas *et al.*, 2005a; Mota-Rojas *et al.*, 2005b).

Los animales del estudio retrospectivo estuvieron entre el tercer tercio de gestación y los primeros días de vida, reduciendo el rango de edad considerado en el procedimiento del trabajo; mientras que los cabritos incluidos en el prospectivo disminuyeron todavía más el rango, al no pasar de los 7 días de edad. Esto podría deberse a que el SDR tipo I y III tienen origen desde la vida fetal, y suelen manifestar su problemática al momento del nacimiento, con punto crítico a las 72 h de vida en los sobrevivientes (Santamaría, 2002), mientras que el SDR tipo II es ocasionado al momento del parto debido a la aspiración de meconio y líquido amniótico, dejando secuelas críticas en los sobrevivientes que se extienden por varios días (Santamaría, 2002; Alonso-Spilbury et al., 2005). Lo antes mencionado concuerda con otro estudio (Martínez-Burnes, 2002) en el que se señala que la respuesta inflamatoria en pulmones de ratas recién nacidas inoculadas con meconio intratraqueal fue mucho más notoria del día 1 al 3 de vida de los animales, y que al día 7 disminuyó, desapareciendo en los días subsecuentes.

Muchos de los casos de las muertes en cabritos de 0 a 30 días provienen de partos múltiples, es decir, de dos o tres animales en el mismo parto. Las hembras que tienen múltiples crías en una sola gestación tienen mayor probabilidad de que por lo menos una de sus crías muera en el último tercio de gestación, al parto o poco después de

éste; además de que en ellas aumenta el riesgo de aborto y parto prematuro. Cabe mencionar que dentro del estudio prospectivo se procesaron dos casos provenientes del mismo parto donde uno de los cabritos murió a causa de SDR tipo II, debido a la expulsión de meconio del cabrito que nació antes que él, y que presentó sufrimiento fetal. Entonces, otra razón por la que los partos de más de una cría pueden aumentar el riesgo de muerte por SDR, es porque si la primera cría nace en posición correcta, y ocurre la expulsión de meconio, la o las crías que aún están por nacer se verán afectadas. Lo cuál puede ser similar a lo que sucede en cerdos, donde el grado teñido por meconio en la piel de las crías incrementó con el orden de nacimiento. Los lechones nacidos en segundo y último lugar de la camada fueron más frecuente y más gravemente afectados que los primeros en nacer, aunque esto no arrojó una diferencia estadística significativa (Mota et al., 2006).

Las cabras a primer parto suelen tener problemas con la expulsión de los fetos y con el manejo de estos luego del nacimiento, sin embargo, esto se intensifica cuando la madre es demasiado joven (menos de un año), pues su cuerpo aún sigue en desarrollo, lo que ocasiona que el canal de parto sea más pequeño que el de las cabras de mayor edad, además de la falta de experiencia del animal con respecto a las crías. Todo lo anterior aumenta el riesgo de partos prematuros, distócicos y con accidentes como la ruptura del cordón umbilical y mal manejo del recién nacido por parte de la madre (García, 2011). Durante el último tercio de gestación, entre la semana 6 a 8 antes del parto, el consumo de alimento disminuye considerablemente en comparación con otros rumiantes domésticos y se incrementa la demanda de nutrientes. La mala alimentación al final de la gestación puede comprometer la gestación, la salud de la hembra y su comportamiento materno (Jimeno *et al.*, 2003)

Los hallazgos a la necropsia en los animales del estudio prospectivo denotan en su mayoría algún resto fetal en el cuerpo del animal, como meconio y membranas que no se retiraron adecuadamente. El meconio en particular hace referencia a que el animal presentó sufrimiento fetal y dificultades en el parto, provocando su expulsión dentro del canal de parto, el cual pudo ser aspirado por las demás crías que estaban por nacer y por el mismo animal que lo expulsó (Bleu, 2009). En las cerdas, sólo 8.5% de los 525 lechones nacidos vivos y que sobrevivieron tiempo después del parto, presentaron restos de meconio en la piel, mientras que el 100% de las crías muertas presentaron la piel sucia con meconio (Mota et al., 2006). El meconio aspirado induce consolidación pulmonar multifocal y puede teñir ligeramente las áreas afectadas de verde, además de obstaculizar la distensión en el tejido alveolar afectado (Martínez-Burnes, 2002).

En cuanto al tejido pulmonar de los animales con SDR analizado en el estudio prospectivo no mostró diferencia estadística significativa con respecto a los controles sanos, respecto a la cantidad de materiales en el espacio aéreo, especialmente de meconio, signos de inmadurez, edema, membranas y bacterias, de los cuales el grupo control no presentó restos. El grupo prospectivo presentó una alta prevalencia de piel teñida con meconio, y dentro del tejido pulmonar sin presentar diferencias significativas

con el grupo control. En otros estudios (Mota, 2006), tampoco hay asociación significativa entre el grado de meconio en la piel y la cantidad encontrada en el tejido pulmonar. El contenido de células inflamatorias y epiteliales en el grupo control, está justificado por la ligera presencia de líquido amniótico dentro del tejido pulmonar que se encontró, pues, aunque éste no induce lesiones macroscópicas, en la examinación microscópica se pueden encontrar células epiteliales, queratina y algunos neutrófilos y macrófagos en las regiones alveolares (Martínez-Burnes, 2002). No hubo diferencias entre los hallazgos histológicos observados en ambos pulmones con SDR; solo dos casos presentaron bacterias, y ambos la presentaron en el pulmón derecho únicamente. No hay literatura que mencione alguna causa por la cual el pulmón derecho tenga mayor carga bacteriana en las cabras, sin embargo, en dos estudios realizados en cerdos, se reportan lesiones neumónicas con mayor implicación en el pulmón derecho de los cerdos estudiados (Guzmán et al., 2008; Castro y Montenegro, 1992).

Con respecto a las tinciones especiales, no fue posible corroborar positividad por la presencia de meconio en los espacios aéreos con la tinción de Hall que se emplea en medicina humana para identificar sales biliares. Esto coincide con lo observado en otras especies como cerdo y bovino (comunicación personal Dr. Alfonso López Mayagoitia). En un estudio realizado con ratas recién nacidas a las que se les inoculó meconio intratraqueal, donde las muestras de tejido pulmonar fueron contaminadas con meconio y teñidas con Hall, no facilitó la visualización del material dentro del tejido (Martínez-Burnes, 2002); sin embargo, los cortes de estos mismos tejidos que fueron teñidos con HE mostraron claramente los restos de meconio en los espacios alveolares. En el tejido con HE, el meconio tiene apariencia de material granular, amorfo y de color amarillo oscuro que degrada hasta amarillo claro, siendo ésta la mejor tinción para identificar meconio (Martínez-Burnes, 2002).

El tejido pulmonar con SDR teñido con PAS y AA, no presentaron diferencias significativas con respecto a los controles. Cabe señalar, que AA tuvo menor intensidad en las membranas y moco que el PAS. En el estudio mencionado anteriormente (Martínez-Burnes, 2002), también se utilizaron las tinciones de PAS y AA, las cuales sí ayudaron en la identificación del moco al teñir los mucopolisacáridos y mucinas que seguían siendo detectables luego de un largo tiempo de la aspiración del meconio; sin embargo, se recomienda de primera elección la tinción de PAS por tener mayor efectividad en los casos de aspiración de meconio que el Azul Alciano y Hall. Esto guarda relación con el hecho de que los pulmones de los controles y los de los casos incluidos en el retrospectivo mostraron diferencia estadística entre sí en la tinción de PAS, pero no en AA.

Se acepta la hipótesis del presente estudio, que propone que el tejido pulmonar de cabra en edad perinatal que cursa con SDR, tiene una baja expresión de VEGF en comparación con el tejido pulmonar de cabras de la misma edad que no presentaron SDR. Lo anterior se sustenta en que la expresión del VEGF en los pulmones de cabrito

con SDR fue estadísticamente menor que en los pulmones sin alteraciones de cabritos recién nacidos. Estos resultados guardan relación con los presentados Remesal (2008), quien observó que los ratones de 0 días sometidos a SDR que murieron a causa de este y sin recibir tratamiento, presentan menor expresión de VEGF en el tejido pulmonar que aquellos que fueron recuperados con aire, betametasona o dexametasona. Este autor reporta que los ratones muertos a causa del SDR presentaron baja cantidad de surfactante, baja expresión de VEGF y pocos alveolos insuflados. Todo lo anterior fue observado y evaluado mediante cortes de tejido pulmonar sometidos a inmunohistoquímica con anticuerpo anti VEGF. Esto es acorde con lo que el presente estudio obtuvo; sin embargo, es importante aclarar que se comparan los resultados con un estudio realizado en ratones al ser lo más parecido, debido a que no hay trabajos similares en cabras o algún otro rumiante.

La importancia del VEGF durante la maduración pulmonar y su expresión variable según los niveles de hipoxia en el tejido respiratorio, fue demostrada en otros estudios que emplearon ratones mutantes (Oosthuyse *et al.*, 2001; Ng, 2001; Compennolle *et al.*, 2003). Estos autores explican que algunas isoformas del VEGF son producidas por el epitelio pulmonar para mediar en el montaje y/o estabilización de la red vascular, que a su vez es crítica para el desarrollo alveolar y la producción de surfactante. Cualquier insuficiencia en éstos, puede desencadenar SDR en el animal en edad perinatal, como sucedió en las cabras recién nacidas o en último tercio de gestación del presente trabajo.

La angiogénesis, la formación de nuevos vasos sanguíneos capilares, es un requisito absoluto para el establecimiento de un suministro vascular suficiente en tejidos normales y neoplásicos, así como para el intercambio gaseoso que se lleva a cabo en los alveolos pulmonares (Tille *et al.*, 2003). Varias moléculas afectan las funciones endoteliales de las células implicadas en estos procesos; muchos son factores de crecimiento de polipéptidos, entre los que se mencionan al factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), y al factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), esta última es la mejor caracterizada y angiopoyetina (ANG) (Carmeliet, 2000; Ferrara, 2001). El VEGF y otras numerosas citosinas se sobre expresan en situaciones de daño pulmonar asociado a diversas etiologías, lo cual puede desencadenar SDR.

La hipoxia estimula la angiogénesis través de la señal producida por el Factor Inductor de hipoxia, funcionando este como marcador para la producción de VEGF por parte del tejido; por lo tanto, algunos de los eventos que desencadenan el SDR también pueden estimular la producción de VEGF en el tejido pulmonar (Oosthuyse *et al.* 2001) Al no existir un tratamiento para el SDR en los animales, todo lo que respecta a la recuperación de este por parte de las cabras, es desconocido. La administración de VEGF en la cavidad amniótica de los ratones nacidos prematuramente puede aumentar la producción de proteína surfactante de los neumocitos tipo 2, lo que sugiere que la administración de VEGF tiene un potencial terapéutico para estimular la maduración pulmonar en los mamíferos prematuros (Compennolle *et al.*, 2003). Por

otro lado, la expresión constitutiva de VEGF durante el desarrollo postnatal aumenta el crecimiento pulmonar (Haigh, 2008), mejorando las condiciones del tejido pulmonar y de la función respiratoria en general. Esto concuerda con los resultados del presente estudio, pues a pesar de que en la metodología se planteó en un principio el uso de cadáveres de cabra de 0 a 30 días de edad, no hubo ningún ejemplar que rebasara los 15 días, y los ejemplares mayores a 2 días fueron escasos.

La mortalidad causada por SDR podría disminuir mejorando la atención durante el parto, los registros de los animales siempre actualizados para determinar la capacidad de las madres, determinar las fechas probables de parto, con el objetivo de detectar los partos gemelares o distócicos y asistirlos a tiempo. Además de ayudar a las madres a limpiar a las crías y evitar con ello que los recién nacidos puedan asfixiarse con restos fetales o morir por hipotermia. Todos los mamíferos recién nacidos presentan dificultad para respirar por la boca, por lo que pueden presentar disnea o incluso morir si se les tapa la nariz (Segarra, 2006). Es más económico explicar al productor la importancia de llevar registros completos y ordenados de su producción, además de que conozca los aspectos básicos del SDR. La mayoría de los decesos relacionados con el SDR neonatal son catalogados únicamente como muertes al parto por distocia, al no realizarse el diagnóstico post mortem y desconocerse la patogenia de este síndrome.

Para evitarla, se implementan diversas medidas prácticas, que van desde la programación de los partos y la asistencia humana en los nacimientos, hasta las incubadoras y corrales acondicionados para los recién nacidos, según la especie y el tipo de producción. Cuando se asiste el parto en los mamíferos y se limpia al neonato de sangre y membranas fetales, especialmente en la zona rostral, éste tiene mayores posibilidades de sobrevivir, incluso si el parto fue distócico y el neonato presentó sufrimiento fetal; sin embargo, la falta de madurez de los tejidos del neonato puede ser un factor decisivo en la supervivencia del animal, incluso a pesar de la asistencia al parto, por lo cual se deben tener registros de los padres y de su historial reproductivo, y de ser posible monitorearse la evolución intrauterina de los fetos hasta llegar a su término.

Es importante considerar los cambios fisiológicos, estructurales y moleculares que tienen lugar durante el parto con el subsecuente impacto de la vitalidad, maduración y desarrollo de los animales. El estudio de la actividad de los factores de crecimiento vascular ayudará a describir la patofisiología del SDR en los animales, pudiendo con ello evitar muchas de las muertes neonatales en producción. El entendimiento de esta enfermedad contribuirá a la implementación de medidas efectivas para reducir la mortalidad neonatal y mejorar el desarrollo postnatal, así como establecer las bases para el posible uso terapéutico de los factores de crecimiento vascular.

Conclusiones

El SDR se presenta en cabritos de manera similar que en otras especies domésticas.

Siendo una causa de mortalidad perinatal importante en el grupo de estudio, considerando que tiene distintas causas y puede asociarse a otros padecimientos respiratorios. La asistencia al parto podría ser un tratamiento efectivo y más económico para evitar el SDR.

El VEGF tiene menor expresión en los pulmones de cabras que nacen con SDR con respecto a los cabritos sanos. El VEGF expresado en una cantidad adecuada para cada especie en la etapa del desarrollo, es indispensable para el desarrollo y maduración de las estructuras pulmonares. Es importante establecer los tiempos en las etapas de maduración pulmonar en los caprinos, con el fin de identificar la función del VEGF durante cada fase de este proceso. Los partos múltiples representan mayor riesgo para las crías, así como las crías de gran tamaño corren mayor riesgo de sufrir SDR, debido a la distocia.

Es destacable la importancia de estandarizar los términos utilizados en el diagnóstico patológico. En muchas ocasiones se utilizan términos diferentes para los mismos hallazgos, lo cual dificulta la interpretación del diagnóstico final.

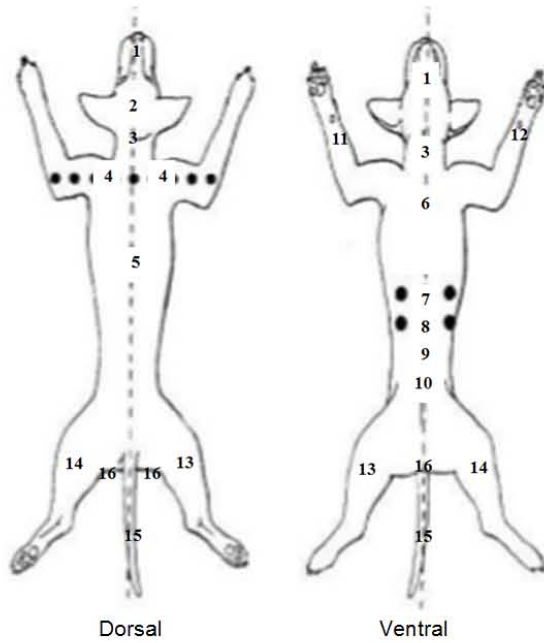
Literatura citada

1. Alonso-Spilsbury M, Mota RD, Martínez-Burnes J, Arch E, López-Mayagoitia A, Ramírez-Necoechea R, Olmos A, Trujillo ME. (2004). Use of oxytocin in penned sows and its effect on fetal intra-partum asphyxia. *Animal Rep. Sci.* 84: 157-167.
2. Alonso-Spilsbury M, Mota RD, Villanueva GD, Martínez-Burnes J, Orozco H, Ramírez-Necoechea R, López-Mayagoitia A, Trujillo ME. (2005). Perinatal asphyxia pathophysiology in pig and human: A review. *Animal Rep. Sci.* 90: 1-30
3. Altman PL, Dittwer DS. *Respiration and circulation*. 1ª reedición. Bethesda, Maryland, EUA: Federation of American Societies for Experimental Biology. 2008.
4. Apgar V, James LS. (1962). Further observations of the newborn scoring system. *Am. J. Dis. Child*, 104, 419-427.
5. Armed Forces Institute of Pathology. 1968. *Manual of Histologic Staining Techniques*. 3ª edición. E.U.A: Mc Graw-Hill publications.
6. Bleul UT. (2009). Respiratory distress syndrome in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.*,25(1), 179-93.
7. Bleul UT, Bircher BM, Kähn WK. (2008). Effect of intranasal oxygen administration on blood gas variables and outcome in neonatal calves with respiratory distress syndrome: 20 cases (2004-2006). *J. Am Vet Med. Assoc.*, 5, 233(2), 289-93.
8. Brown SKR, England MK, Goss KL, Snyder JM, Acarregui MJ. (2001). VEGF induces airway epithelial cell proliferation in human fetal lung in vitro. *Am Journal of phys.* 281(4), 1001-1010.
9. Miller MA, Zachary JF. Mechanisms and Morphology of Cellular Injury, Adaptation, and Death. In: Zachary JF, editor. *Pathologic basis of veterinary disease*. 6th edition. St. Louis, Missouri: Elsevier. 2017.
10. Carmeliet P. (2000). Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis, *Nat. Med*, 6, 389–395.
11. Castro NJA, Martinez-Burnes J, Mota RD, Cuevas RH, López A, Ramírez-Necoechea R, Gallegos-Sagredon R, Alonso-Spilsbury M, (2006). Morphological changes in the lungs of meconium-stained piglets. *J Vet Diagn Invest* 18:622–627.
12. Castro, H. Montenegro v. 1992. Caracterización patológica de la neumonía enzoótica en porcinos sacrificados en Santa Fe de Bogota (Doctoral dissertation, Tesis de grado, Universidad de La salle).
13. Compennolle V, Brusselmans K, Acker T. et al. (2003). Loss of HIF-2alpha and inhibition of VEGF impair fetal lung maturation, whereas treatment with VEGF prevents fatal respiratory distress in premature mice. *Nat Med*, 8, 702–710.
14. Ferrara N. (2001). Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis, *Am. J. Physiol. Cell Physiol*, 280, 1358–1366.
15. Frelin C, Ladoux A, Bateurs C. 1997. VEGF: médiateur de l'angiogenèse hypoxique. *médecine/sciences*. 13: 886-91.
16. García GJ. 2011. *Causas y factores relacionados con la muerte de cabritos en el altiplano mexicano*. [Tesis de maestría]. Ciudad de México, México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.
17. Gebb SA, Shannon JM. 2000. Tissue interactions mediate early events in pulmonary vasculogenesis. *Dev Dyn* 217(2):159-69.
18. González Armengod, C., Omaña Alonso, M. F. (2006). Síndrome de distrés respiratorio neonatal o enfermedad de membrana hialina. *Bol. pediatr*, 46(supl. 1), 160-165.
19. Guzmán, H., Mogollón, J. D., Rincón, M., & Lora, A. M. (2008). Correlación entre las

- lesiones macroscópicas e histopatológicas de la neumonía enzoótica y la detección del *Mycoplasma hyopneumoniae* por pcr anidada en lavados bronco-alveolares en cerdos al sacrificio. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 55(1), 39-48.
20. Haworth SG, Hislop AA. 2003. Lung development- the effects of chronic hypoxia. *Seminars in Neonatology* 8(1):1-8
 21. Íñiguez F, Sánchez I. 2009. Desarrollo pulmonar. *Neumología pediátrica*. 148-155. J
 22. Jimeno V.; Majano, M.A.; Mazzucheli, F.; Mirat, F. (2003). Patologías nutritivas en la terminación del toro de lidia. VI Symposium del Toro de Lidia. Zafra. Pp. 51-61.
 23. Karapinar T, Dabak M. (2008). Treatment of premature calves with clinically diagnosed respiratory distress syndrome. *J. Vet. Intern Med.*, 22(2), 462-466.
 24. Martínez-Burnes, J., Lopez, A., Wright, G.M., Ireland, W.P., Wadowska, D.W. and Dobbin, G.V. (2002). Microscopic changes induced by the intratracheal inoculation of amniotic fluid and meconium in the lung of neonatal rats. *Histol Histopathol*, 17, 1067-1076.
 25. Martínez-Burnes J, López A., Wright GM, Ireland WP, Wadowska DW, Dobbin GV. (2003). Ultrastructural changes in the lungs of neonatal rats intratracheally inoculated with meconium. *Histol. Histopathol*. 18, 1081-1094.
 26. García Monterde J, Gil Cano F. Embriología veterinaria. Un enfoque dinámico del desarrollo animal. 2012. 1ª edición. España: Interamericana.
 27. Morrisey EE, Brigid LM. 2010. Preparing for the first breath: genetic and cellular mechanisms in lung development. *Developmental cell* 18(1):8-23
 28. Mota RD, Martínez-Burnes J, Alonso-Spilsbury ML, López A, Ramírez-Necoechea R, Trujillo OME, Medina HFJ, de la Cruz NI, Albores TV, Loredó OJ. (2006). Meconium staining of the skin and meconium aspiration in porcine intrapartum stillbirths. *Livestock science*. 102: 155-162.
 29. Mota RD, Martínez-Burnes J, Trujillo OME, López A, Rosales AM, Ramirez R, Orozco H, Merino A, Alonso-Spilsbury M. (2005). Uterine and fetal asphyxia monitoring in parturient sows treated with oxytocin. *Anim. Rep. Sci*. 86, 131-141
 30. Mota RD, Nava OAA, Trujillo ME, Velázquez AY, Ramírez-Necoechea R, Martínez-Burnes J, Alonso-Spilsbury M. (2005). Dose minimization study of oxytocin in early labor in sows: Uterine activity and fetal outcome. *Rep. Tox*. 20, 255-259
 31. Oosthuysen B, Moons L, Storkebaum E, et al. (2001). Deletion of the hypoxia-response element in the vascular endothelial growth factor promoter causes motor neuron degeneration. *Nat Genet*, 28, 131-138.
 32. Remesal EA. 2008. Factor de crecimiento endotelial vascular en la maduración pulmonar en ratas con corticosteroides prenatales, sometidas a hipoxia y recuperadas con aire o hiperoxia. [Tesis doctoral]. Salamanca, España: Facultad de medicina de la universidad de Salamanca.
 33. Rodríguez BI, Castañeda UMA, Pérez MPY, Rodríguez RV, Jiménez GGA, Rodríguez BR. (2000). Empleo de surfactante y ventilación de alta frecuencia oscilatoria en neonatos con síndrome de aspiración meconial e hipertensión pulmonar persistente. *Revista Mexicana de Pediatría*. Vol 67, No. 2. 55-59.
 34. Romero EG, Méndez RI, Tello VA, Torner ACA. (2004). Daño neurológico secundario a hipoxia isquémica perinatal. *Arch. Neurocién. (Cd.Mx.)*. Vol. 9 No. 3.
 35. Santamaría MR. 2002. Síndrome de dificultad respiratoria tipo I. *Salud en Tabasco*. 3:133-138
 36. SAS. 2004. System for Windows versión 9.1. User's guide Statistics. SAS. Inst. Inc. Cary, North Carolina, USA.
 37. Segarra EE. Fisiología de los aparatos y sistemas. Cuenca, España: Universidad de Cuenca; 2006.

38. Simons M, Rubanyi GM. Modern concepts in angiogenesis. London, UK: Imperial College Press; 2007.
39. Steel RGD, Torrie J, Dickey DA. 1997. Principles and procedures of statistics: A biometrical approach. 3rd Ed. Mc Graw-Hill. Book 6. New York, USA. 165 p.
40. Tille JC, Wang X, Kenneth E, Lipson G, McMahon B, Ferrara N, Zh Z, Hicklin DJ, Sleeman JP, Eriksson U, Alitalo K, Peppera MS. (2003). Vascular endothelial growth factor (VEGF) receptor-2 signaling mediates VEGF-C_{N_C}- and VEGF-A-induced angiogenesis in vitro. *Experimental Cell Research*, 285, 286–298.
41. United States Department of Agriculture. National Animal Health Monitoring System. Sheep and Lamb Nonpredator Death Loss in the United States. 2004. Estados Unidos, 2006. http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/sheep/downloads/sheepdeath/sheep_nonpred_deathloss_2004.pdf Consulta: 15 de agosto de 2014.
42. Voelkel NF, Vandivier RW, Tuder RM. 2006. Vascular Endothelial Growth Factor in the lung. *American journal of physiology* 290: L209-L221
43. Warburton D, et al. 2000. The molecular basis of lung morphogenesis. *Mechanisms of development* 92(1):55-81
44. Wiswell TE. (2011). Resuscitation in the Delivery Room: Lung Protection from the First Breath *Resp. Care*. 56 (9), 1360-1368
45. Zagariya A, Sierzputovska M, Navale S, and Vidyasagar D. Role of Meconium and Hypoxia in Meconium Aspiration-Induced Lung Injury in Neonatal Rabbits. *Mediators of Inflammation*, vol. 2010, Article ID 204831, 6 pages, 2010. <https://doi.org/10.1155/2010/204831>.

Anexo 1. Mapa dermatológico veterinario que indica las zonas de la piel y la clave de localización.



Zona anatómica	Número
Ninguna	0
Rostro	1
Cabeza	2
Cuello	3
Hombros	4
Dorso	5
Tórax	6
Abdomen craneal	7
Abdomen medio	8
Zona umbilical	9
Abdomen caudal	10
Miembro Torácico derecho	11
Miembro Torácico izquierdo	12
Miembro Pélvico derecho	13
Miembro Pélvico izquierdo	14
Cola	15
Ano	16

Anexo 2

Soluciones empleadas en la técnica de IHQ de VEGF Streptoavidina Peroxidasa

SOLUCIÓN 1: 1x TBS + 0.1% Tween 20

Primero preparamos el 1xTBS:

Trizma Base, minimum 99,9% tritiaton (T1503 Sigma)

Trizma Hydrochloride Reagent Grade (T3253 Sigma)

Sodium Chloride (S9625 Sigma)

mm totales	Trizma Base	Trizma Hydroclorid	NaCl
200	0.194 g	1.322 g	1.7 g
500	0.485 g	3.305 g	4.25 g
1000	0.97 g	6.61 g	8.5 g

1 ml Tween 20 en 1000 ml de TBS

SOLUCIÓN 2: Se hace justo antes de la estimulación del antígeno

Ac. Cítrico monohidrato (A1) ----- 0.377 g

Citrato de Sodio (B5) ----- 2.41 g

Agua destilada ----- 1000 MI

También:

Citrato buffer (100 x) Spring Bioscience en dilución 1:100 en agua destilada

SOLUCIÓN 3: Inhibición de la peroxidasa endógena

Cantidad para 5-10 portas en vaso de Koplin

Agua oxigenada 30% mantenida a 4°C----- 2.4 mL

Metanol -----77.6 mL

Cantidad para 10 o más portas en cubeta histológica

Agua oxigenada 30% mantenida a 4°C----- 6 mL

Metanol -----197 mL

SOLUCIÓN 4: DAB Substrate System Spring Bioscience

Adicionar 30 μ L (1 gota) del Cromógeno DAB por cada 1.5 ml (50 gotas) del Sustrato DAB en un vial, mezclar con agitador vortex y aplicar 100 μ L c/ porta.

Incubar por 1-10 minutos.

Enjuagar 4 veces en el Buffer.

Anexo 3. Protocolo de IHQ para VEGF Streptoavidina Peroxidasa

Se elige un porta como control (+), y control (-) al que no pondremos Ac 1°, pero sí Ac-2°

Nº	ACCIÓN	t (min)	Tª (°C)	PRODUCTO	Nota
1	Ablandar parafina en estufa	20	60	Estufa	Cubeta histológica
2	Desparafinar	5	Amb	Xilol	Cubeta histológica
3	Desparafinar	5	"	Xilol	Cubeta histológica
4	Hidratación tejido	5	"	Alcohol 100%	Cubeta histológica
5	Hidratación tejido	5	"	Alcohol 100%	Cubeta histológica
6	Hidratación tejido	5	"	Alcohol 95%	Cubeta histológica
7	Hidratación tejido	5	"	Alcohol 70%	Cubeta histológica
8	Lavado	2	"	H ₂ O destilada	Cubeta histológica
9	Recuperación antigénica	5	High	Solución 2	Inmersión de portas en vaso Koplín baño María en microondas
10	Enfriar	20	Amb	Solución 2	portas dentro del vaso Koplín con solución 2
11	Lavado	5	Amb	Agua destilada	Cubeta histológica
12	Inhibición de la peroxidasa endógena	5	Amb	Solución 3	Vaso de Koplín
13	Lavado	5	Amb	Solución 1	
14	Montar los Coverslides en el Rack			Solución 1	
15	Bloqueador de proteínas (Cat #DPB-XXX)	10	"	Solución PBS, pH 7.6, con 0.5% BSA, 0.5% caseína y < 0.1% Sodio ácido	Lista para usarse, colocar en un vial 100 µL/porta
16	Lavado	5	"	Solución 1	
17	Anticuerpo 1°	30	"	Ac 1° + Solución diluyente 1:100 (10 µL Ac/990 µL sol dil)	100 µL/porta
18	4x Lavado	2	Amb	Solución 1	
19	Anti-Polivalente Biotinilado de cabra (Cat#DGP-XXX)	10	"	IgG Biotinilado de cabra Anti-ratón y conejo (H+L) en PBS, pH 7.6 con < 0.1% Sodio ácido	Lista para usarse, colocar en un vial 100 µL/porta
20	4x Lavado	2	Amb	Solución 1	
21	Streptavidina peroxidasa (Cat# DSP-XXX)	10	"	SA-HRP conjugado en PBS, pH 7.6 Kit Polivalente HRP	Lista para usarse, colocar en un vial 100 µL/porta
22	4x Lavado	4	"	Solución 1	
23	Desmontar los Rack				Poner en horizontal
24	Revelado Diaminobencidina DAB Sustrato	5-10	"	DAB Substrato System 1 g cromógeno/ 50 gotas dil.	Preparar en el momento. 100 µL/porta
25	Stop revelado	3	"	3x H ₂ O agua corriente	Desechar en DAB con sol. de cloro Cubeta histológica
26	Tinción de contraste	3-5	"	Hematoxilina	Cubeta histológica
27	Lavado	0.5	"	3x H ₂ O agua corriente	Cubeta histológica
28	Deshidratar Etanol (70-95-100%) x1	2	"	Etanol	Cubeta histológica
29	Xilol x2	2	"	Xilol	Cubeta histológica
30	Montar		"	Eukitt	

Anexo 4. Necropsias de cabras de 0 a 30 días de edad. Retrospectivo 2009 a 2015.

Numero de caso	Raza	Edad	Sexo	Diagnóstico
SDC-09-	TG	3/3	Hembra	Hipotermia asociada a inmadurez
SDC-09-034 B	TG	3/3	Macho	Hipotermia asociada a inmadurez
SDC-09-046 A	AF	1 d	Macho	Atelectasia congénita
SDC-09-046 B	AF	1 d	Macho	Atelectasia congénita
SDC-09-046 C	AF	1 d	Hembra	Atelectasia congénita
SDC-09-71	NR	NR	NR	Asfixia y traumatismo
SDC-09-72	SN	Neonato	Macho	Sufrimiento fetal e hipoxia
SDC-09-82	AF	1 me	Hembra	Bronconeumonía
SDC-09-131	CX	Neonato	Macho	Aspiración de líquido amniótico
SDC-09-136	CX	Neonato	Macho	Síndrome Fetal. e hipoxia
SDC-09-137	CX	Neonato	Macho	Hipoxia
SDC-09-351	AF	2 d	Macho	Inanición-exposición Neumonía. lobar y Pleurobronconeumonía.
SDC-10-15	TG	Feto	Hembra	síndrome fetal
SDC-10-034 A	TG	Neonato	Hembra	síndrome fetal
SDC-10-034 B	TG	Neonato	Macho	síndrome fetal
SDC-10-034 C	TG	Neonato	Macho	síndrome fetal
SDC-10-42	TG	Neonato	Macho	Inmadurez Pulmonar
SDC-10-050 A	AF	3/3	Hembra	Insuficiencia Respiratoria
SDC-10-050 B	AF	3/3	Hembra	Insuficiencia Respiratoria
SDC-10-70	SN	4 d	Hembra	Falta surfactante
SDC-10-76	TG	Neonato	Hembra	Falta surfactante
SDC-10-273	AF	4 días	Hembra	Inmadurez Pulmonar. y meconio
SDC-10-284 A	TG	Neonato	Macho	Sufrimiento fetal, proceso bacteriano
SDC-10-284 B	TG	Neonato	Macho	Sufrimiento fetal, proceso bacteriano
SDC-10-368	TG	Neonato	Macho	Aspiración de meconio
SDC-10-410	TG	Neonato	Hembra	Distocia
SDC-10-440	TG	Neonato	Hembra	Aspiración de meconio. Prognatismo
SDC-11-033 A	AF	3/3	Hembra	síndrome fetal aspiración de meconio
SDC-11-033 B	AF	3/3	Macho	síndrome fetal y meconio
SDC-11-82	AF	Neonato	Hembra	Estrés, atelectasia, problemas nutricionales
SDC-11-110	AF	Neonato	Hembra	Aspiración de meconio
SDC-11-111	AF	Neonato	Hembra	Insuficiencia cardiaca
SDC-11-112	AF	Neonato	Hembra	Hipoxia, ducto arterioso persistente
SDC-11-113	AF	Neonato	Macho	Hipoxia, ducto arterioso persistente
SDC-11-157	AF	6d	Macho	Insuficiencia cardiorrespiratoria
SDC-11-422	AF	Feto	Hembra	Inmadurez. pulmonar
SDC-11-441 A	BR	Neonato	Macho	Aspiración de meconio, células escamosas
SDC-11-441 B	BR	Neonato	Macho	Aspiración de Meconio, células escamosas
SDC-11-441 C	BR	Neonato	Macho	Aspiración de Meconio, células escamosas
SDC-11-453	AF	Neonato	Macho	Síndrome fetal
SDC-11-471	TG	Neonato	Hembra	Palatosquitis, Síndrome fetal
SDC-12-259 A	S/D	Neonato	Macho	Aspiración de meconio, stress
SDC-12-259 B	S/D	Neonato	Macho	Aspiración de meconio, stress
SDC-12-263	TG	1d	Macho	Hipoxia sistémica
SDC-12-358	NR	NR	NR	Aspiración de meconio, evento traumático
SDC-13-707 B	SN	Neonato	Hembra	Distrés respiratorio neonatal
SDC-13-707 C	SN	Neonato	Hembra	Distrés respiratorio neonatal
SDC-13-737 A	AF	3d	Hembra	Aspiración de líquido amniótico y meconio
SDC-13-737 B	AF	3 d	Hembra	Aspiración de líquido amniótico y meconio
SDC-13-738	SN	1 d	Macho	Aspiración de sangre, síndrome fetal
SDC-14-1231	TG	12 d	Macho	Insuficiencia respiratoria grave

SDC-14-1253	AF	1 d	Hembra	<i>Escherichia coli</i> y aspiración de meconio
SDC-14-1261	AF	1 d	Hembra	Colibacilosis
SDC-14-1262	AF	Neonato	Hembra	Aspiración de meconio y distocia
SDC-14-1274	TG	2d	Hembra	Septicemia
SDC-14-1328 A	TG	Neonato	Hembra	Broncoaspiración de meconio
SDC-14-1328 B	TG	Neonato	Hembra	Broncoaspiración de meconio
SDC-14-1376	TG	1 sem	Macho	Aspiración de meconio y distocia
SDC-14-46	BR	11d	Hembra	sin diagnóstico
SDC-14-1438	CX	1 m	Macho	Neumonía
SDC-15-157	AF	Neonato	Hembra	Falta de calostro
DOUS-15-19	BR	Neonato	Macho	Distrés respiratorio e hipovolemia por distocia
SDC-15-1242 A	AF	Feto	Macho	Infección sistémica y onfaloflebitis
SDC-15-1242 B	AF	Feto	Hembra	Infección sistémica y onfaloflebitis
SDC-15-1245 A	TG	Feto	Macho	Infección sistémica
SDC-15-1245 B	TG	Feto	Macho	Infección sistémica
SDC-15-1245 C	TG	Feto	Macho	Infección sistémica
SDC-15-1285	AF	129 días	Hembra	Síndrome de distrés respiratorio y traumatismo
SDC-15-1286	AF	Neonato	Macho	Distrés respiratorio neonatal y herpes virus
SDC-15-1306 A	SN	Neonato	Macho	Muerte in útero
SDC-15-1306 B	SN	Neonato	Hembra	Sufrimiento fetal por distocia
SDC-15-1316	AF	1 sem	Hembra	SDR y traumatismo
INUS-15-55	AF	1 día	Macho	Síndrome de distrés respiratorio neonatal
SDC-15-1321 A	AF	Neonato	Macho	Hipoxia por distocia
SDC-15-1321 B	AF	Neonato	Macho	Hipoxia por distocia
INUS-15-58	AF	Neonato	Hembra	Inmadurez fetal. SDR
INUS-15-61	AF	5 días	Hembra	SDR y onfaloflebitis
INUS-15-63	TG	2 semanas	Hembra	Neumonía viral
INUS-15-64	TG	Neonato	Macho	SDR por aspiración de meconio
INUS-15-65	TG	Neonato	Hembra	Síndrome de distrés respiratorio neonatal por aspiración de meconio y líquido
INUS-15-66	TG	10 días	Macho	Cianosis, insuficiencia respiratoria y deshidratación
INUS-15-69	TG	Neonato	Macho	Inmadurez fetal y politraumatismo
INUS-15-70 A	AF	Neonato	Macho	Infección transplacentaria viral y bacteriana
INUS-15-70 B	AF	Feto	Macho	Infección transplacentaria viral y bacteriana
INUS-15-71	TG	3 sem	Hembra	Neumonía bacteriana
INUS-15-72	TG	Feto	Hembra	Infección transplacentaria bacteriana
SDC-15-1424	Cx Br	3 días	Hembra	SDR por inmadurez pulmonar
INUS-15-73	AF	4 semanas	Hembra	Neumonía, gastroenteritis y alteración neurológica
SDC-15-1445	Cx Br	3 se	Macho	Septicemia, neumonía, desnutrición y deshidratación
Total: 89 casos				

Anexo 5. Necropsias de cabras con Síndrome de Distrés Respiratorio que cumplieron con el criterio de inclusión. 2009 -2015.

Número	Raza	Edad	Sexo	Diagnóstico
SDC-09-136	CX	Neonato	Macho	SDR neonatal por aspiración de meconio
SDC-09-137	CX	Neonato	Macho	SDR neonatal
SDC-10-34	TG	Neonato	Macho	Sufrimiento fetal
SDC-10-42	TG	Neonato	Macho	SDR neonatal por inmadurez pulmonar
SDC-10-50 A	AF	Feto	Hembra	SDR, sufrimiento fetal, meconio
SDC-10-50 B	AF	Feto	Hembra	SDR, sufrimiento fetal, meconio
SDC-10-70	SN	4 días	Hembra	SDR neonatal por inmadurez pulmonar
SDC-10-76	TG	Neonato	Hembra	SDR neonatal por inmadurez pulmonar
SDC-11-33	AF	Neonatos	Ambos	SDR, sufrimiento fetal, meconio
SDC-11-110	AF	Neonato	Hembra	SDR neonatal por aspiración de meconio
SDC-11-111	AF	Neonato	Hembra	Inmadurez cardiaca, SDR neonatal
SDC-11-112	AF	Neonato	Hembra	Inmadurez cardiaca, SDR neonatal
SDC-11-113	AF	Neonato	Macho	Inmadurez cardiaca, SDR neonatal
SDC-11-157	AF	6d	Macho	Inmadurez cardiaca, SDR neonatal
SDC-11-441 A	BR	Neonatos	Machos	SDR neonatal por aspiración de meconio y líquido amniótico
SDC-11-441 B	BR	Neonatos	Machos	SDR neonatal por aspiración de meconio y líquido amniótico
SDC-11-441 C	BR	Neonatos	Machos	SDR neonatal por enfermedad de la membrana hialina
SDC-11-471	TG	Neonato	Hembra	Palatosquisis, sufrimiento fetal
SDC-12-263	TG	1 d	Macho	SDR neonatal por inmadurez pulmonar y cardiaca
SDC-12-358	S/D	Neonato	S/D	SDR neonatal por aspiración de meconio y politraumatismo
SDC-13-707 B	SN	Neonatos	Hembras	SDR neonatal
SDC-13-707 C	SN	Neonatos	Hembras	SDR neonatal
SDC-13-737A	AF	3 d	Hembra	SDR neonatal por aspiración de meconio y líquido. Inanición
SDC-13-737B	AF	3 d	Hembra	SDR neonatal por aspiración de meconio y líquido. Inanición
SDC-13-738	SN	1 d	Macho	Sufrimiento fetal, aspiración de sangre
SDC-14-1231	TG	12 d	Macho	Septicemia. SDR
SDC-14-1253	AF	1 d	Hembra	SDR neonatal por aspiración de meconio
SDC-14-1262	AF	Neonato	Hembra	SDR neonatal por inmadurez pulmonar y asp. de meconio
SDC-14-1328 A	TG	Neonato	Hembra	SDR neonatal por aspiración de meconio y líquido amniótico
SDC-14-1328 B	TG	Neonato	Hembra	SDR neonatal por aspiración de meconio y líquido amniótico
SDC-14-1376	TG	1 sem	Macho	SDR, sufrimiento fetal, meconio
DOUS-14-46	BR	11d	Hembra	(Sin dato)
SDC-15-1285	AF	129 d gestación	Hembra	SDR neonatal y politraumatismo
SDC-15-1306	SN	4.2 m gestación	1M y 1H	SDR neonatal por inmadurez pulmonar y aspiración de meconio
INUS-15-55	AF	Neonato	Macho	SDR neonatal
Total: 35 casos				

Anexo 6. Cabritos con Síndrome de Distrés Respiratorio. Estudio prospectivo septiembre a diciembre de 2015

Número	Raza	Edad	Sexo	Diagnóstico
SDC-15-1286	AF	Neonato	Macho	SDR neonatal por aspiración de meconio y HVC-1
SDC-15-1316	AF	1 semana	Hembra	SDR neonatal y politraumatismo
SDC-15-1321 A	AF	Neonato	Macho	SDR neonatal
SDC-15-1321 B	AF	Neonato	Macho	SDR neonatal por inmadurez pulmonar
SDC-15-1424	Cx	3 días	Hembra	SDR neonatal por inmadurez pulmonar
DOUS-15-19	BR	Neonato	Macho	SDR, sufrimiento fetal, líquido amniótico
INUS-15-58	AF	Neonato	Hembra	SDR neonatal por inmadurez pulmonar
INUS-15-61	AF	1 semana	Hembra	SDR y onfaloflebitis
INUS-15-64	TG	Neonato	Macho	SDR neonatal por aspiración de meconio
INUS-15-65	TG	Neonato	Hembra	SDR neonatal por aspiración de meconio y líquido amniótico
INUS-15-66	TG	Neonato	Macho	SDR neonatal
INUS-15-69	TG	Neonato	Macho	SDR neonatal y politraumatismo
Total: 12 casos				

Anexo 7. Evaluación meconio y membranas fetales en la piel y orificios naturales de cabritos con SDR. Estudio prospectivo septiembre a diciembre de 2015.

Número de caso	% de meconio	% membranas fetales	% de sangre	Zonas anatómicas predominantes
SDC-15-1286	100	80	15	1, 13, 14, 15, 16
SDC-15-1316	0	0	0	0
SDC-15-1321 A	100	20	15	13, 14, 15, 16
SDC-15-1321 B	10	25	0	5, 6, 16
SDC-15-1424	0	0	0	0
DOUS-15-019	0	0	0	0
INUS-15-058	65	5	25	1, 2, 3
INUS-15-061	8	0	15	16
INUS-15-064	76	30	10	4, 5, 6
INUS-15-065	10	65	10	4, 5, 6
INUS-15-066	0	0	0	0
INUS-15-069	5	0	19	8, 11, 12, 13, 14, 16
Promedio	31.2	18.8	9.1	

Anexo 8. Áreas teñidas con meconio en cabritos con SDR. CEIEPAA, FMVZ UNAM. Estudio prospectivo agosto a diciembre de 2015

Zona anatómica	Clave	Número de cabras	Prevalencia
Ninguna	0	4	33%
Rostro	1	2	17%
Cabeza	2	1	8%
Cuello	3	1	8%
Hombros	4	2	17%
Dorso	5	3	25%
Tórax	6	3	25%
Abdomen craneal	7	0	0%
Zona umbilical	8	1	8%
Abdomen medio	9	0	0%
Abdomen caudal	10	0	0%
Miembro Torácico derecho	11	1	8%
Miembro Torácico izquierdo	12	1	8%
Miembro Pélvico derecho	13	3	25%
Miembro Pélvico izquierdo	14	3	25%
Cola	15	2	17%
Ano	16	5	42%

Anexo 9. Evaluación del VEGF e histoquímica (ácido peryódico de Schiff, Azul alciano y Hall) en pulmones de cabra con SDR. 2009 a agosto de 2015

No. de caso	Epitelio bronquial	Muscular Bronquio	Epitelio Bronquiolar	Muscular Bronquiolar	Neumocitos	Endotelio Vascular	Muscular de vasos	PAS	Hall	AA
SDC-09/ 136	3	3	2	2	2	1	2	1 IA	0	0
SDC-09/ 137	0	0	2	2	2	0	0	1 IA	0	1 IA, IB, IBL
SDC-10/ 034	3	3	3	3	1	2	1	3 IA, IB, IBL	0	1 IB, IBL
SDC-10/ 042	3	3	3	2	1	1	0	3 IA, IB	0	1 IA
SDC-10/ 050 A	0	0	0	0	1	2	2	1 IA	0	0
SDC-10/ 050 B	3	3	3	3	2	0	0	3 IA, IB	0	1 IB, IBL
SDC-10/ 070	0	1	1	1	0	0	0	1 IA	0	1 IBL
SDC-10/ 076	3	3	3	3	0	0	0	2 IA, IB, IBL	0	2 IB
SDC-11/ 033	3	2	2	2	0	3	1	3 IA, IB	0	0
SDC-11/ 110	3	3	2	2	0	0	0	2 IA, IB, IBL	0	1 IA, IB
SDC-11/ 111	3	3	2	2	0	1	0	2 IA, IB	0	1 IA
SDC-11/ 112	2	2	1	1	0	0	0	2 IA, IB, IBL	0	1 IBL
SDC-11/ 113	2	2	1	1	0	0	0	3 IA, IB, IBL	0	2 IA, IB, IBL
SDC-11/ 157	3	2	3	3	0	1	1	1 IA	0	0
SDC-11/ 441 A	3	2	3	2	0	2	2	3 IA	0	1 IA, IB, IBL
SDC-11/ 441 B	3	2	3	2	0	2	2	3 IA, IB, IBL	0	1 IA, IBL
SDC-11/ 441 C	3	2	2	2	0	3	2	1 IA, IB, IBL	0	3 IA, 2 IBL
SDC-11/ 471	3	3	2	2	1	3	1	1 IA, IBL	0	0
SDC-12/ 263	2	2	1	1	1	2	1	2 IA, IB, IBL	0	0
SDC-12/ 358	0	0	1	2	0	0	1	1 IA	0	0
SDC-13/ 707 B	3	3	2	2	0	0	2	1 IA, IB	0	1 IA, IB
SDC-13/ 707 C	2	2	2	2	1	1	2	1 IA, IB, IBL	0	1 IA, IB, IBL
SDC-13/ 737 A	3	3	3	2	0	2	2	2 IBL	0	0
SDC-13/ 737 B	3	3	2	2	0	2	2	2 IBL	0	0
SDC-137 738	3	3	3	2	0	1	1	2 IB, IBL	0	1 IA
SDC-14/ 1231	2	2	2	2	0	2	2	1 IBL	0	0
SDC-14/ 1253	2	1	2	1	0	1	1	2 IA	0	1 IBL
SDC-14/ 1262	1	1	1	1	0	2	1	1 IA, IB, IBL	0	0
SDC-14/ 1328 A	2	1	2	1	0	0	0	2 IA, 3 IB, IBL	0	1 IA, IB, IBL
SDC-14/ 1328 B	1	1	1	1	0	1	0	1 IA, 2 IB IBL	0	1 IA, IB
SDC-14/ 1376	1	1	1	1	0	1	0	1 IA, 2 IB IBL	0	1 IA, 2 IB, IBL
DOUS-14/ 046	3	2	2	0	0	2	2	1 IA	0	0
SDC-15/ 1285	2	2	2	1	0	2	1	1 IA	0	0
SDC-15/ 1306A	0	1	0	0	0	1	1	3 IA, IBL	0	1 IB
INUS-15/ 055	1	1	1	1	0	1	1	1 IA	0	0