



11262 <sup>2</sup> 2g

**"CORTISOL, INSULINA, PROLACTINA, TIROTROPINA  
Y HORMONAS TIROIDEAS ( T<sub>3</sub>, T<sub>3r</sub>, T<sub>4</sub> ) Y  
SU RELACION CON EL SURFACTANTE  
PULMONAR".**

ESTADOS UNIDOS MEXICANOS  
SECRETARÍA DE SALUD

**DR. JORGE LUIS ARZATE LOPEZ**

**1 9 9 2**



## **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 está 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.

## INDICE

### I. ANTECEDENTES.

1.- Desarrollo Embrionario Temprano.	1
2.- Surfactante Pulmonar	8
• Biosíntesis de Fosfolípidos	11
- Síntesis de Novo de Fosfatidilcolina	12
- Sitio Subcelular y Celular	16
- Biosíntesis de Fosfatidilcolina Disaturada	18
- Fosfatidilglicerol y Fosfatidilinositol	19
• Papel de substratos y enzimas en la regulación de la Biosíntesis de Fosfatidilcolina	21
• Citidiltransferasa de Fosfato de Colina	22
• Cinasa de Colina	25
• Transferasa de Fosfato de Colina	26
• Fosfatasa del Fosfatidato	26
• Papel de los Precursores Circulantes	27
- Acidos Grasos del Plasma	27
- Síntesis de Novo de Acidos Grasos	27
- Glucosa y Glicerol	28
3.- Influencia de las Hormonas y otros Agentes Fisiológicos en la Maduración Fetal Pulmonar y Producción de Surfactantes	29
• Agentes que estimulan la Síntesis de Surfactante	30
- Glucocorticoides	30
- Hormona Tiroidea y Tirotropina	30
- Prolactina	32
- Otras Hormonas, Péptidos y Factores de Crecimiento	32
- -Insulina	33
• Agentes que estimulan la Secreción de Surfactante	35
- -Diferencias de Sexo en Maduración Pulmonar Fetal	37
- -La influencia del Trabajo de Parto	38
II. JUSTIFICACION	39
III. OBJETIVOS	42
IV. HIPOTESIS	43

V. METODO	44
VI. PROCEDIMIENTO	45
1.- Determinación de Surfactante Pulmonar	47
• Extracción de Fosfolípidos	47
- -Preparación del Estandar	48
- -Cromatografía en Capa Fina Bidimensional	49
- -Radioinmunoensayo	50
• Cortisol Total	51
• Insulina	54
• Prolactina	55
• Tirotropina	58
• Tiroxina	59
• Triyodotironina	62
• Triyodotironina Reversa	63
VII. DISEÑO	65
- Variables	65
- Estadística	65
VIII. RESULTADOS	67
1.- Fosfolípidos en Líquido Amniótico	68
• Índice Lecitina-Esfingomielina	68
• Fosfatidilcolina	69
• Fosfatidilcolina y Fosfatidilglicerol	70
• Fosfatidilglicerol	71
• Fosfatidiletanolamina	72
• Fosfatidiletanolamina y Lecitina-Esfingomielina	73
• Fosfatidilcolina y Fosfatidiletanolamina	74
• Fosfatidilglicerol y Fosfatidiletanolamina	75
• Fosfatidilinositol y Fosfatidiletanolamina	76
• Fosfatidilinositol	77
2.- Hormonales en el Curso del Tercer Trimestre de la Gestación Normal.	78
• Cortisol en Líquido Amniótico	78
• Cortisol en Sangre Materna	79
• Cortisol en el Trabajo de Parto	80

• Cortisol y Lecitina-Esfingomielina	81
• Insulina en Líquido Amniótico	82
• Insulina en Sangre Materna	83
• Insulina en el Trabajo de Parto	84
• Prolactina en Líquido Amniótico	85
• Prolactina en Sangre Materna	86
• Prolactina en el Trabajo de Parto	87
• Tirotropina en Líquido Amniótico	88
• Tirotropina en Sangre Materna	89
• Tirotropina en el Trabajo de Parto	90
• Tirotropina en Líquido Amniótico y Sangre Materna	91
• Tiroxina en Sangre Materna	92
• Tiroxina en el Trabajo de Parto	93
• Triyodotironina en Sangre Materna	94
• Triyodotironina en el Trabajo de Parto	95
• Triyodotironina Reversa en Líquido Amniótico	96
• Triyodotironina Reversa en Sangre Materna	97
• Triyodotironina Reversa en el Trabajo de Parto	98
<b>IX. ANALISIS DE RESULTADOS.</b>	<b>99</b>
<b>1.-Surfactante Pulmonar</b>	<b>99</b>
• Lecitina-Esfingomielina	99
• Fosfatidilcolina	103
• Fosfatidilglicerol	104
• Fosfatidiletanolamina	106
• Fosfatidilinositol	105
<b>2.-Hormonales</b>	<b>107</b>
• Cortisol en Líquido Amniótico	
• Cortisol en Sangre Materna	109
• Cortisol en el Trabajo de Parto	112
• Insulina en Líquido Amniótico	114
• Insulina en Sangre Materna	116
• Insulina en el Trabajo de Parto	117
• Prolactina en Líquido Amniótico	118
• Prolactina en Sangre Materna	119
• Prolactina en el Trabajo de Parto	121
• Tirotropina en Líquido Amniótico	122

• Tirotrópina en Sangre Materna	123
• Tirotrópina en el Trabajo de Parto	124
• Hormonas Tiroideas en Líquido Amniótico	125
• Hormonas Tiroideas en Sangre Materna	128
• Hormonas Tiroideas en el Trabajo de Parto	130
X. CONCLUSIONES	133
XI. BIBLIOGRAFIA	139

## I. ANTECEDENTES.

### 1.-DESARROLLO EMBRIONARIO TEMPRANO

El surco laringotraqueal, que constituye la primera indicación del futuro sistema respiratorio, aparece en el embrión humano de aproximadamente 24 días. <sup>(2)</sup> Este primordio está alargado en el suelo del intestino, en posición inmediatamente caudal en relación con las bolsas faríngeas.

Visto en superficie, el endodermo se proyecta hacia afuera como una arruga ventral limitada por surcos laterales, que van haciéndose cada vez más profundos. Se unen, y, en consecuencia emiten primero el primordio pulmonar, y después la futura tráquea.

El primordio pulmonar se bifurca en los dos bronquios primarios, que crecen lateralmente hacia sus respectivas cavidades pleurales, llevándose por delante masas redondeadas de mesénquima revestido de mesotelio.

Toda la ramificación subsiguiente y el desarrollo de estructuras bronquiales y alveolares, tienen lugar dentro de esta masa de tejido, ya que las estructuras endodérmicas y las mesodérmicas crecen simultáneamente.

Todas las estructuras respiratorias se desarrollarán a partir del endodermo y del mesénquima, <sup>(2)</sup> y solo células epiteliales especializadas, que se piensa tienen funciones neurohumorales, probablemente sean de origen ectodérmico <sup>(2)</sup>.

El músculo liso, las placas cartilaginosas de las vías de conducción aérea, el endotelio vascular y linfático, y las fibras elásticas y colágenas que acabarán rodeando las vías aéreas y formarán la masa principal de pleura y tabiques, también son de origen mesenquimatoso.

A la quinta semana del desarrollo embrionario, aparecen los bronquios lobares como protuberancias que salen de los dos bronquios primarios.

Por una serie de ramificaciones dicotómicas asimétricas se forman las vías aéreas de conducción, de manera que a las seis o siete semanas pueden ya observarse las diez ramas principales del pulmón derecho y las ocho del izquierdo. Esta organización es el presagio de las unidades lobares y segmentarias del pulmón maduro.

El período de formación bronquial es relativamente breve. Del 65 al 75% de todas las futuras ramas se forman entre las semanas décima y decimocuarta. El cartilago aparece a las siete semanas. Las células ciliadas aparecen en las futuras vías aéreas altas a las siete semanas, y las células caliciformes a las diez semanas. El diafragma y el revestimiento mesotelial que forman la pleura ya existen a las siete semanas (2).

Se han identificado linfáticos en la región hilar en fase tan temprana como el segundo mes del embarazo. Al tercer mes han formado una red extensa alrededor de los bronquios, la arteria pulmonar y las venas pulmonares dentro del pulmón en desarrollo, y se han extendido penetrando en el mesénquima pleural y septal (2).

A las 15 semanas de gestación (70 g), el microscopio de luz permite observar el tejido pulmonar, mostrando vías potenciales incluidas en el mesénquima dispuesto en forma laxa. El mesénquima que rodea inmediatamente las vías aéreas se condensa formando una adventicia, que queda separada del revestimiento epitelial por una membrana basal. Los capilares se reconocen fácilmente, pero todavía se hallan muy lejos de las luces de los espacios aéreos potenciales. La mucosa de los bronquios más proximales, que ya muestra pliegues longitudinales, está revestida de un epitelio cilíndrico ciliado pseudoestratificado, con células altas no ciliadas y secretoras interpuestas. A medida que las vías aéreas progresan en dirección distal, quedan revestidas casi exclusivamente de células no ciliadas, y finalmente el primordio terminal de la vía aérea está cubierta de un epitelio cuboide de células no diferenciadas. Las células cilíndricas ciliadas tienen aspecto morfológicamente muy similar al de sus contrapartidas maduras. Hay microvellosidades muy finas interpuestas entre largos cilios esbeltos, que están unidos a una serie apical de cuerpos basales. Debajo de esta hilera, hay mitocondrias dispersas, un retículo endoplásmico esparcido, ribosomas libres, y muchos gránulos de glucógeno. El aparato de Golgi se halla encima del núcleo. Entre las porciones apicales de esta célula hay íntimas uniones irriparrilias. La superficie lateral inferior de la célula forma interdigitaciones con células vecinas, a las cuales se une con desmosomas. Hay espacios intercelulares dispuestos irregularmente alrededor de las bases celulares. Las células secretoras no ciliadas en esta región están dispersas entre las células ciliadas. Se trata de células cilíndricas altas, con vértices que se proyectan en la luz, muchas veces con superficies irregularmente ondulantes cubiertas por pequeñas microvellosidades. Las bases de estas células no ciliadas, así como las ciliadas, es-

tán firmemente unida a la membrana basal enroscada. El citoplasma apical contiene mitocondrias dispersas, tiras cortas de retículo endoplásmico, ribosomas libres, partículas de glucógeno e inclusiones de diversos tipos unidos a la membrana densa (cuerpos densos). Las mitocondrias también pueden ser numerosas debajo del núcleo. Los aparatos de Golgi prominentes están localizados arriba o a un lado del núcleo. Hay células basales ovoides dispersas a lo largo de la membrana basal, explicando el aspecto pseudoestratificado del epitelio. Este nivel de la vía de conducción aérea persistirá como bronquicio en el pulmón maduro.

Las vías aéreas terminales en esta etapa del desarrollo están revestidas por células cilíndricas o cuboides indiferenciadas. Se hallan cubiertas de microvellosidades cortas y gruesas encima de la superficie luminal. Por debajo de estas microvellosidades hay una zona rica en mitocondrias, y el resto del citoplasma está lleno de glucógeno denso en partículas. El núcleo tiene localización central, con nucléolos prominentes. El citoplasma del polo basal se interdigita profundamente con pliegues de membrana basal. Uniones estrechas cortas, ricas en electrones, unen éstas células al polo apical, con muchos espacios intercelulares que parecen cuerpos esféricos, interpuestos, y desmosomas ocupan las regiones que rodean lateralmente las células. En muchas de estas células existen cuerpos densos. Estas células revisten porciones del pulmón que sigue produciendo yemas formadoras de nuevas unidades respiratorias. Es a partir de estas células indiferenciadas que más tarde nacen las células tipo I y II.

Las células mesenquimatosas indiferenciadas del tejido intersticial tienen muchas proyecciones largas digitiformes contiguas a las de otras células mesenquimatosas. Tienen pocos organitos, pero están llenas de partículas de glucógeno. En el intersticio hay haces de finas fibrillas colágenas. A las 18 semanas de embarazo, el mesénquima es invadido por yemas terminales proliferantes. Los capilares siguen proliferando en las áreas que rodean los túbulos, pero todavía no invaden su revestimiento epitelial. Ahora ya hay linfáticos septales bien desarrollados. Las yemas pulmonares terminales todavía están cubiertas de células indiferenciadas ricas en glucógeno, y en éstas células no se ha observado más desarrollo de organitos intracelulares. En ninguna etapa del embarazo hay vías aéreas en desarrollo proximales a los términos de las yemas sin lúmenes.

A las 21 semanas de embarazo (400 g), un número creciente de túbulos revestidos de epitelio penetran en la masa mesenquimatosa. Por entonces aparecen los primeros organitos que recuerdan cuerpos laminares maduros en algunas de las células que revisten las yemas pulmonares terminales. Estas células ahora hacen protusión en las lucas de los espacios aéreos potenciales arriba del área de unión estrecha entre las células. Partículas densas de glucógeno todavía llenan el citoplasma, y las mitocondrias apicales quedan por debajo de microvellosidades cortas. Entre los desmosomas laterales que unen las células hay grandes espacios. En algunas áreas estos espacios parecen comunicar directamente con el espacio potencial que existe entre las células epiteliales y la membrana basal. Pueden verse unos pocos capilares invadiendo el epitelio terminal aplanando el citoplasma de la célula epitelial cuboide indiferenciado de revestimiento.

A las 22 semanas de embarazo (500 g), han aparecido muchos más espacios aéreos terminales, y estructuras que parecen bronquiolos respiratorios se abren en largas vías aéreas potenciales ramificándose donde los capilares entran en estrecho contacto con el epitelio de revestimiento, encomendando a esta zona el papel de un futuro intercambio gaseoso. Hay arteriolas bien definidas localizadas cerca de los futuros conductos alveolares. La invasión capilar aplanan el epitelio sobre su superficie alveolar, para producir el aspecto de células de revestimiento de tipo I. Esto forma una superficie real pero limitada potencial para la interfase aire-sangre. Aparecen botones terminales que nacen de esta área, cubierta todavía con células indiferenciadas, que se observan en un corte transversal como criptas o túbulos aislados.

Durante toda esta etapa del desarrollo pulmonar, la supervivencia extrauterina no es un proyecto realista. Hay un potencial extraordinariamente limitado de interfase sangre-aire para intercambio gaseoso.

El tejido intersticial del pulmón todavía es tan extenso, en proporción de las distancias entre las vías aéreas, que la adaptabilidad del tejido sería muy poca cosa, incluso si las vías aéreas estuvieran revestidas de material que disminuyera la tensión superficial.

Aunque alguna célula de vía aérea terminal puede producir material laminar, que probablemente contenga surfactante, su número no sería bastante para asegurar la estabilidad de la vía aérea. Tampoco resulta

probable que exista actividad secretora en dichas células en esta edad temprana.

Entre las semanas 22 y 24 (500 a 550 g), la preparación para la vida extrauterina va produciéndose rápidamente, con el desarrollo de muchas inclusiones laminares en células que revisten las vías aéreas distales. Estas laminillas aparecen en las células cuboides previamente indiferenciadas, que ahora se están diferenciando en las células alveolares maduras de tipo II, con microvellosidades más altas y menos glucógeno en citoplasma. El glucógeno ahora tiene predominantemente aspecto de roseta. La invasión capilar de ésta zona se desarrolla rápidamente, aumentando el área superficial de la interfase potencial aire-sangre. Hay células indiferenciadas que revisten las criptas de las yemas.

Durante las dos semanas siguientes (semanas 25 y 26, -600 a 800 g), tienen lugar cambios críticos con ritmo rápido, y muchas criaturas con éste grado de madurez pulmonar pueden nacer vivas y respirar aire si salen prematuramente al mundo exterior. Que lo hagan con buen resultado dependerá de varios factores, tanto dentro como fuera del útero.

Muchos de los cambios estructurales importantes del pulmón ya habrán tenido lugar, y está en plena evolución la diferenciación celular que brinda la capacidad de producir surfactante.

Hay un mayor incremento de capacidad de las vías aéreas terminales para el intercambio gaseoso, aumentando el número de capilares que llegan a lograr contacto íntimo con espacios aéreos potenciales. El tejido que separa el espacio intravascular del espacio aéreo potencial, a través del cual tiene que producirse la difusión de gases, consta de células epiteliales con citoplasma delgado que reviste los capilares, en estrecha posición con las células epiteliales que cubren las vías aéreas, y cuyo citoplasma se ha atenuado donde los capilares "se dirigen" hacia la luz.

Algunas de estas extensiones citoplásmicas todavía tienen microvellosidades en su superficie luminal, y forman parte de células de tipo II que contienen laminillas. Otras, que carecen de microvellosidades, no pueden distinguirse morfológicamente del epitelio maduro de tipo I.

Este tipo de vía aérea terminal se distingue de los alveolos verdaderos por sus dimensiones superficiales, el número y la distribución de paredes capilares en contacto estrecho con espacios aéreos potenciales, y por la

cantidad de mesénquima residual que queda entre unidades terminales vecinas.

En muchos lactantes hay abundantes células alveolares maduras con aspecto de tipo II, con muchos cuerpos laminares cerca de su polo apical. La adaptabilidad de este pulmón todavía no se acerca a la correspondiente a un lactante maduro, a pesar de la capacidad de producir surfactante, por la gran cantidad de tejido conectivo residual que existe, y el inconveniente adicional de la poca estabilidad de la pared torácica de la criatura que nace viva en esta etapa de la gestación.

De la semana 27 a la 28, el feto, de 900 a 1000 g, está preparado cada vez más para poder respirar aire. Los espacios aéreos terminales más bien que estructuras bronquiales, constituyen la mayor parte del área de corte transversal del pulmón, y muchas paredes capilares tocan las superficies epiteliales aplanadas. Las células maduras de tipo II secretan activamente material tensoactivo hacia los espacios por exocitosis.

Morfológicamente estas células tienen complejos de unión estrecha situados por debajo de su superficie apical, y pueden hacer prominencia dentro del espacio aéreo, de manera que se parecen a los del pulmón maduro.

Las células de tipo II no son las que revisten predominantemente estas vías aéreas, pero comparten el área superficial con epitelio bien diferenciado de tipo I. Sin embargo, todavía no se ha producido la verdadera alveolización. La distancia entre los espacios aéreos terminales todavía es bastante, llena de fibroblastos dispersos y haces de colágeno. La cantidad de mesénquima laxo que persiste entre los capilares cubiertos de células epiteliales que revisten las luces de las vías aéreas vecinas puede explicar la relativa facilidad con la cual el líquido intersticial se acumula en el lactante de este volumen, ya que este amplio espacio potencial puede actuar como esponja antes que el líquido alcance los linfáticos pulmonares contiguos al espacio. Este espacio también queda disponible para la disección de aire que, en forma similar, puede acabar abriéndose paso hacia los linfáticos pulmonares.

En las semanas 28 a 29 de la gestación (1000 a 1100 g), los bronquiolos están revestidos de células que hacen nido por debajo de los vértices de células secretoras no ciliadas. Estas últimas están cubiertas de pequeñas microvellosidades. Cilios largos y delgados se proyectan dentro de las lu-

ces. Se están desarrollando distalmente conductos alveolares, que se abren en pequeños sacos terminales revestidos de células maduras de tipo II interpuestas, con muchos capilares distendidos debajo de células maduras de tipo I. Este es un período de transición, inmediatamente antes que sea posible una vía aérea estable sin sostén extra.

Durante la vida fetal, entre las semanas 26 y 30, la diferenciación de todas las tipos celulares y el desarrollo estructural de todas las partes de las vías aéreas pueden no tener lugar en forma paralela, y un tipo específico de células, p. ej., células de tipo II, o una serie de cambios estructurales, p. ej., la invasión capilar, pueden estar bajo la acción de diferentes influencias de maduración. Hormonas como cortisol, control de crecimiento epidérmico, tiroxina, prolactina y probablemente muchos otros, pueden tener receptores en diferentes tipos celulares que establecen cuales son los órganos blanco correspondientes. Se producen factores de gravedad originando la aparición temprana o tardía de sustancias, que se presentan normalmente y afectan unos tipos celulares más que otros. La cantidad y la duración de estas influencias son difíciles de valorar en la mayor parte de embarazos humanos, y sus efectos sobre los tejidos pulmonares del feto sólo pueden suponerse por analogías con modelos animales y experimentos de la naturaleza.

Entre las semanas 30 y 33, el feto empieza a alveolizar el pulmón rápidamente; aparecen muchos sacos aéreos terminando los conductos alveolares, así como a nivel de bronquiolos respiratorios más proximales. Estos pequeños sacos, que no están plenamente desarrollados constituyendo alveolos maduros cuyas paredes están formadas por capilares y células de tipo I, todavía tienen paredes algo gruesas, y un mesénquima laxo persiste entre espacios aéreos vecinos, más de lo que en el futuro tendrán las verdaderas paredes alveolares.

Esto produce edema intersticial, y la disección por aire es mucho más probable que en la criatura nacida casi a término. Aparecen muchas células de tipo II, maduras, punteando las paredes de los pequeños sacos entre capilares múltiples cubiertos de células de tipo I con citoplasma atenuado. Todavía no han quedado relegadas exclusivamente a las áreas de unión. Los pequeños sacos son superficiales en comparación con los del pulmón maduro, y las vías de conducción aérea constituyen una proporción mayor del tejido pulmonar que la que ocupará cuando vaya teniendo lugar la alveolización.

Entre las semanas 34 y 36 tiene lugar la verdadera alveolización; su cronología y su ritmo dependerán de muchos factores, que afectan la vida intrauterina y el bienestar del feto. Durante este tiempo, el crecimiento del pulmón tiene lugar predominante a base de nuevas unidades alveolares, y el volumen del órgano aumenta rápidamente.

La función pulmonar extrauterina depende menos de la maduración del pulmón que de la existencia o la ausencia de otros factores que influyen adversamente sobre la función pulmonar, como asfixia, choque, o redistribución refleja repetida del riego sanguíneo.

El pulmón de un lactante nacido durante su período de crecimiento parece perturbarse fácilmente por estas influencias diversas en su capacidad de ventilar gases, o de conservar la estabilidad de la vía aérea mediante la producción de surfactante, pero normalmente tiene la capacidad de ventilar los gases y secretar una cantidad suficiente de surfactante para sobrevivir. Esta capacidad alcanza valores casi iguales a los de la vida madura entre las semanas 37 y 40 del embarazo, cuando otras influencias, probablemente de tipo endocrino y humoral, preparan a la criatura para la madurez anatómica y fisiológica.<sup>(2)</sup>

## **2.- SURFACTANTE PULMONAR**

Sabemos que el pulmón fetal sufre una amplia diferenciación anatómica e histológica preparándose para su papel como órgano de intercambio de gases en el neonato.

Para adaptarse con éxito al estado de respiración aérea, el pulmón termina de madurar fisiológica y biológicamente, desarrollando así la capacidad de producir el material rico en fosfolípidos que reviste el epitelio respiratorio y disminuye la tensión superficial, llamado SURFACTANTE PULMONAR; que a pesar de ser descrito funcionalmente como un material con baja tensión de superficie en una interfase agua-aire, es difícil definirlo químicamente.

El surfactante pulmonar se ha definido con un perfil único de fosfolípidos, particularmente rico en lecitinas muy saturadas (aneniocas y monoeniocas), y probablemente con distintos componentes de proteínas <sup>(1)</sup> conteniendo cantidades menores de colesterol, lípido neutro y otros fosfolípidos <sup>(2)</sup>.

Su composición química precisa en vivo no es conocida <sup>(1,3)</sup>.

La dipalmitoilfosfatidilcolina es el principal componente fosfolípido y es el responsable principal de la actividad de superficie <sup>(1)</sup>. Lo peculiar de la fosfatidilcolina (Pc) proviene de su "subestructura" de ácido graso que muestra un grado muy elevado de saturación: propiedad esencial para la capacidad de disminuir la tensión superficial de la capa de revestimiento alveolar. A diferencia de la mayor parte de tejidos que muestran moléculas de fosfatidilcolina poseyendo un ácido graso saturado en la posición de carbono 2, el líquido bronco alveolar contiene fosfatidilcolina principalmente disaturada del glicerol.

La composición de los fosfolípidos en el surfactante es diferente de los del tejido pulmonar.

El surfactante contiene una gran cantidad de fosfatidilcolina 60%, la cual tiene ácidos grasos saturados; el fosfatidilglicerol (Pg) es otro constituyente especial del surfactante <sup>(3)</sup>, existe en el tejido pulmonar completo donde le corresponde el 2% de fosfolípido total, el Pg está enriquecido en el líquido broncoalveolar donde puede representar el segundo fosfolípido en orden de abundancia con más del 10% del total; Pg es sintetizado activamente en el pulmón del adulto <sup>(3)</sup> y parece sufrir un recambio muy rápido: su composición de ácido graso, es en gran parte de compuestos saturados: La aparición de Pg en el feto en desarrollo guarda correlación con el logro de la madurez pulmonar.

Tales observaciones implican un papel funcional importante para Pg., cuya naturaleza precisa todavía no se ha aclarado <sup>(3)</sup>. La fosfatidilcolina y el fosfatidilglicerol están formados por una "columna vertebral" de glicerol de 3 carbonos, con ácidos grasos esterificados en los grupos hidroxilo de C1 y C2. El tercer carbono está unido de manera similar a una porción de fosfato que a su vez se esterifica con una base. Esto establece la índole asimétrica de las moléculas. Las "colas" de ácidos grasos ricos en hidrocarburos no son polares y las regiones fosfodiéster son polares, permitiendo así la formación de una monocapa de película en las interfases aire-agua.

Aparte de las diferencias potenciales en componentes acídicos grasos, la Pc y el Pg solo difieren estructuralmente en relación con el constituyente alcohólico terminal. La Pc muestra la base nitrogenada trimetilada co-

lina, mientras que el Pg tiene una segunda molécula de glicerol esterificada con fosfato.

Al considerar estas estructuras se comprende que los precursores clave en la producción de Pc y Pg incluyen glicerol y ácidos grasos (por lo tanto diacilglicéridos) colina y por mecanismos indirectos glucosa y etanolamina.

Un principio general en el metabolismo de fosfo-glicéridos es que la introducción de la base terminal a través de un enlace fosfodiéster con la porción diacilglicéridos de la molécula requiere la participación de un derivado de nucleótido de citidina, por lo que éstas etapas de transferencias terminales o casi terminales no pueden tener lugar si no hay una activación de la amina alcohólica o del diacilglicérido; esto se logra en reacciones en las cuales intervienen MgCTP y enzimas específicas de citidiltransferasa. Así pues, la formación de compuestos como CDP colina y CDP diacilglicérido es un requisito para la biosíntesis de fosfatidilcolina y fosfatidilglicerol, respectivamente.

Otra característica importante del metabolismo fosfolípido es que el ácido fosfatídico desempeña un papel central en los procesos sintéticos de novo. Este intermedio clave es el compuesto origen de todos los glicero-lípidos y se halla situado en el punto de ramificación de la formación de fosfatidilcolina y fosfatidilglicerol. Por lo tanto, su producción tiene que estar asegurada y su utilización ha de regularse cuidadosamente.

Son posibles cierto número de interconversiones de fosfolípidos en tejidos de mamíferos incluyendo el pulmón fetal; estas modificaciones de las moléculas intactas de lípidos suelen producirse alterándose el constituyente base nitrogenado, como la descarboxilación de una porción serina para producir etanolamina y la trimetilación de esta última para brindar colina.

También existen otros mecanismos para las reacciones de interconversión metabólica, los cuales pueden influir en la distribución de lípidos en una célula determinada, no proporcionando una síntesis neta de fosfolípido y por lo tanto no pueden originar un aumento en la cantidad de surfactante pulmonar. De todas maneras éstas reacciones permiten una mayor flexibilidad metabólica, aumento de potencial celular para rápida producción de fosfolípidos específicos y que el organismo se adapte a situaciones de alarma. Por ejemplo, el intercambio de ácido graso, alter-

nando la subestructura fosfolípida, permite el remodelado de lípidos como la fosfatidilcolina, lo cual puede resultar de gran importancia en relación con la regulación de la calidad del surfactante pulmonar en el curso del desarrollo del órgano.

Por otro lado, fosfatidiletanolamina, esfingomielina, fosfatidilserina, sustancias del tejido pulmonar, están presentes en muy bajas cantidades en el surfactante. El fosfatidilinositol está también presente en las preparaciones del surfactante existiendo una relación inversa entre fosfatidilglicerol y fosfatidilcolina<sup>(4)</sup>.

El lavado de pulmón fetal, inmaduro contiene poco o nada de fosfatidilglicerol pero sí más del 13% de fosfatidilinositol. La fosfatidilcolina saturada y fosfatidilglicerol no son exclusivos del surfactante ya que también se encuentran en otros órganos<sup>(4)</sup>.

La fosfatidilcolina con dos ácidos grasos saturados en el tejido pulmonar tiene un recambio relativamente rápido<sup>(3)</sup>. En comparación con las moléculas de fosfatidilcolina en las membranas celulares, los componentes del surfactante tienen un ritmo de desintegración mucho más rápido. Esto parece reflejar la utilización funcional del material tensoactivo a nivel de la capa de revestimiento alveolar.

#### **BIOSÍNTESIS DE FOSFOLÍPIDOS**

Para describir la biosíntesis de fosfatidilcolina (Pc), fosfatidilglicerol (Pg) y fosfatidilinositol (Pi), (Fig. 1)(Pag.15 ), es conveniente empezar con fosfato de dihidroxiacetona, un intermediario de la glicólisis, que es metabolizado a 1-acilglicerol 3-fosfato por dos mecanismos: el primero por reducción inicial a glicerol 3 fosfato, y el segundo por acilación inicial para formar fosfato de acilhidroxiacetona seguido de reducción; el 1-acilglicerol 3-fosfato así formado, es entonces acilado para formar ácido fosfatídico, el cual ocupa una posición central en la biosíntesis de glicerolípidos<sup>(1)</sup>.

La existencia en el pulmón de esta vía en la síntesis de fosfatidilcolina puede deducirse de datos obtenidos con radioisótopos por Balint y col.<sup>(3)</sup>. De las dos vías señaladas, la primera probablemente sea la que domina<sup>(3)</sup>. En contraste los trabajos de Mason<sup>(1)</sup> quien midió la contribución relativa de estos dos patrones en células Tipo II de rata en cultivos primarios, concluyó que el 56% de fosfatidilglicerol y el 64% de fosfatidilcolina fue sintetizado por los patrones de acilhidrox. acetona fosfato. Ambas

vías, glicerol 3 fosfato y fosfato de acilhidroxiacetona son catalizadas por la aciltransferasa proteínica de pulmón y otros tejidos. (1).

La acilación de acilglicerol 3 fosfato a ácido fosfatídico es catalizada por la enzima 1-acilglicerol fosfato aciltransferasa, proteína del tejido pulmonar (1).

Una vez formado así el ácido fosfatídico, la conversión a diglicérido está regulada por la fosfatasa de ácido fosfatídico, enzima que en pulmón desempeña un papel importante en la síntesis de novo de fosfolípidos (2).

El diacilglicerol es catalizado por una fosfatasa de ácido fosfatídico, la cual puede reaccionar con CDP colina y CDP etanolamina para formar fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina respectivamente; o ser además acilado para formar triacilglicerol.

El ácido fosfatídico es también convertido a CDP diacilglicerol por la fosfatasa citidiltransferasa, siendo éste el precursor inmediato de los fosfolípidos ácidos que al reaccionar con inositol forman el fosfatidilinositol y con glicerol 3 fosfato el fosfatidilglicerofosfato, el cual es inmediatamente desfosforilado por una fosfatidilglicerofosfatasa a fosfatidilglicerol (1).

Los diglicéridos precursores de fosfolípidos y lípidos neutros tienen una intensidad de recambio elevada en todos los tejidos estudiados; por lo tanto, cabría pensar en un fondo común relativamente pequeño de diglicérido fular (3).

Conocemos muy poco acerca del nivel de diglicérido existente, pero los datos preliminares de Hamosh (3) sugieren que dicho nivel cambia poco durante el curso del desarrollo fetal. De hecho en el pulmón, a los diglicéridos les corresponde del 2 al 5% del fondo común de glicérido neutro y un 0.5 a 0.7% del fondo común total de glicérido (lípidos neutros y fosfolípidos) (3).

#### **MECANISMOS PARA LA SÍNTESIS DE NOVO DE FOSFATIDILCOLINA**

Hay dos vías para la producción de novo de fosfatidilcolina, que teóricamente actúan en el neumocito del feto. La primera es la incorporación de colina o vía de CDP colina (5), secuencia de tres reacciones que incluyen fosforilación de la colina, mediada por la cinasa de colina, activación por conversión del fosfato de colina a difosfato de citidina (CDP) catalizada por la citidiltransferasa de fosfato de colina y finalmente, la

transferencia de la porción fosforilcolina del compuesto activado al diglicérido, por una fosfotransferasa de colina proporcionando así fosfatidilcolina.

En realidad, es la interacción cooperativa de estas 3 reacciones en las etapas metabólicas que llevan a la formación de ácido fosfatídico y a su nitróilisis, lo que finalmente produce fosfatidilcolina.

En el segundo mecanismo de novo, llamado Vía de Metilación <sup>(4)</sup>, la etanolamina sufre pasos similares de fosforilación, activación y fijación del diglicérido para constituir fosfatidiletanolamina, ésta sufre tres metilaciones sucesivas, sirviendo la S-adenosilmetionina como donador de metilo para formar fosfatidilcolina. Por lo que en base a técnicas bioquímicas directas establecidas se ha determinado en forma segura la incorporación de colina en el mecanismo primario para la síntesis de fosfatidilcolina en el pulmón en desarrollo <sup>(3,5)</sup>. Los datos que permiten esta conclusión se han revisado en detalle al verificar que la intensidad de conversión de colina radioactiva en fosfatidilcolina excede en mucho a la de etanolamina y metionina, según han sido medidas con : rebanadas de pulmón en neumocitos tipo II en cultivo de tejido; en pulmón completo (in útero); en estudios que describen las actividades enzimáticas relativas; en la medición de las propiedades cinéticas de las enzimas aisladas; en el aumento manifiesto de la vía CDP colina al final del embarazo; y en la correlación entre los aumentos de actividad de la vía CDP colina y la concentración de fosfatidilcolina en pulmón fetal y líquido amniótico. <sup>(3)</sup>.

¿Cómo se forman compuestos de fosfatidilcolina saturados en pulmón en desarrollo? En la actualidad la opinión más general basada en diversas observaciones experimentales <sup>(6)</sup>, es que la vía de colina no proporciona producto molecular saturado sino más bien moléculas de fosfatidilcolina mezcladas. Esto ha originado el punto de vista actual según el cual el ciclo fosfatidilcolina lisofosfatidilcolina es el mecanismo que opera para controlar la subestructura del ácido graso en el producto final. Las enzimas fosfolipasa A2 y la aciltransferasa de lisofosfatidilcolina y la aciltransferasa de lisofosfatidilcolina: lisofosfatidilcolina, se han identificado en el pulmón como participantes del ciclo de desacilación y/o del ciclo de desacilación transacilación o ambos, pudiendo actuar potencialmente relevando el remodelado de las moléculas de fosfatidilcolina en los derivados saturados característicos del surfactante pulmonar <sup>(6)</sup>.

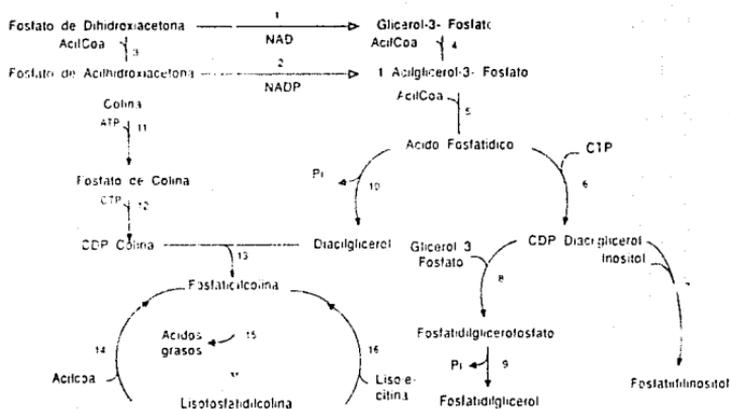
Ciertamente hay motivos para creer que en la formación de fosfatidilcolina saturada la desacilación/reactilación "mecanismo de Lands" o la transacilación "mecanismo de Marinetti" son importantes para la formación de fosfatidilcolina saturada.

Por lo tanto concluimos que la interacción operativa de la vía de incorporación de colina y el mecanismo de producción de diacilglicéridos, originan la formación de moléculas de fosfatidilcolina compuestas de ácidos grasos insaturados. Y el ciclo de intercambio de ácido graso pudiera ser un mecanismo auxiliar vital para la biosíntesis de fosfatidilcolina saturada en el pulmón. (3).

Figura 1.

**SURFACTANTE PULMONAR**

**BIOSÍNTESIS DE FOSFATIDILCOLINA, FOSFATIDILGLICEROL Y FOSFATIDILINOSÍTOL**



15

Nomenclatura de Enzimas. (Unión Internacional de Bioquímica):

1. Dehidrogenasa Glicerol-3-Fosfato
2. Fosfatoreductasa Acilhidroxiacetona
3. Aciltransferasa de Fosfato 3-Hidroxiacetona
4. Aciltransferasa Glicerofosfato
5. 1-Acilglicerol fosfatoacil transferasa
6. Fosfatasa Citidiltransferasa
7. Fosfatidiltransferasa 3-CDP Diácilglicerol - Inositol
8. Fosfatidiltransferasa de Glicerofosfato
9. Fosfatidilglicerofosfatasa
10. Fosfatasa de Acido Fosfatídico
11. Cinasa de Colina
12. Colinafosfato Citidiltransferasa
13. Colinafosfotransferasa
14. Lisolecitina Aciltransferasa
15. Fosfolipasa A<sub>1</sub>
16. Lisolecitina Lisolecitina Aciltransferasa

## SITO SUBCELULAR Y CELULAR

Los Neumocitos tipo II son el sitio de producción del surfactante en el pulmón, a pesar de que esto es sugerido por datos autorradiográficos <sup>(1)</sup>. Esto no fue firmemente establecido hasta que el procedimiento para el aislamiento de las células tipo II fue desarrollado. <sup>(1)</sup>.

Comparado con el tejido pulmonar, las células tipo II aisladas sintetizan fosfatidilcolina saturada y fosfatidilglicerol de precursores tales como acetato de colina, palmitato, glicerol y glucosa en medio de cultivo <sup>(1)</sup>.

La evidencia más convincente de que las células tipo II producen surfactante fue la demostración de que el material que secretan en cultivo, tiene la misma composición de fosfolípidos <sup>(1)</sup>, la misma apariencia morfológica, la misma actividad de superficie, y contiene la misma apolipoproteína que el surfactante de lavado pulmonar.

Scott y col. <sup>(1)</sup> reportaron en cultivo de pulmón de conejo fetal de 24 días de gestación, el aislamiento de células pretipo II, por lo que se necesitarán estudios posteriores para confirmar esta interesante observación, y para demostrar inequívocamente que las células indiferenciadas llegan a ser verdaderamente neumocitos tipo II. <sup>(1)</sup> No es conocido si la célula tipo II se diferencia en células tipo I en vivo o en algún otro tipo de célula epitelial, pero las células tipo II son el progenitor de las células epiteliales tipo I alveolares <sup>(1)</sup>.

Un aspecto morfológico característico de los neumocitos tipo II es la presencia de cuerpos laminares de inclusión. Los Cuerpos Laminares son organelos ricos en lípidos y son el sitio de almacenamiento del surfactante intracelular <sup>(1)</sup>. Son excretados de las células tipo II y su membrana es convertida en mielina tubular en el lumen alveolar <sup>(1)</sup>. Los cuerpos laminares y la mielina tubular son considerados formas morfológicas diferentes del surfactante, pero su relación funcional con el surfactante no es clara. Han sido demostrados en el lumen alveolar y en líquido amniótico, el cual contiene surfactante expulsado del pulmón fetal. Los cuerpos laminares han sido aislados del pulmón fetal de varias especies, incluyendo el humano <sup>(1)</sup>. El promedio de fosfolípidos/proteínas en los cuerpos laminares aislados fue de 6 a 14 veces mayor que el pulmón homogenizado, células tipo II u otra fracción subcelular pulmonar, y la composición de fosfolípidos fue muy similar a la del surfactante del lavado pulmonar <sup>(1)</sup>. Datos autorradiológicos de tejido de pulmón de ratón adulto incubado

do con palmitato, permitieron a Adamson y Bouden <sup>(1)</sup> concluir que el surfactante fue sintetizado en la membrana externa de los cuerpos laminares, soportado esto por la localización histoquímica de fosfatasa fosfatídica en la misma área.

Pero a pesar de que los estudios bioquímicos confirman la presencia de fosfatasa fosfatídica en los cuerpos laminares aislados, ha habido un considerable desacuerdo con respecto a la cantidad de esta enzima en estos organelos <sup>(1)</sup>, por lo que es posible que la actividad de la fosfatasa fosfatídica en los cuerpos laminares con el carácter lisosomal de estos organelos pueda jugar un rol muy reducido en su síntesis <sup>(7)</sup>. Estos pueden por ejemplo estar involucrados en el metabolismo de la reabsorción de surfactante por las células tipo II del lumen alveolar <sup>(7)</sup>, o es posible, sin embargo, que la fosfatasa fosfatídica en los cuerpos laminares sea realmente fosfatidilglicerofosfatasa y esté involucrada en la síntesis de fosfatidilglicerol <sup>(7)</sup>. Estos datos pueden sugerir por lo tanto un rol para los cuerpos laminares en la síntesis de fosfatidilglicerol.

Sin embargo, los cuerpos laminares no contienen citidiltransferasa fosfatídica, ni fosfatidiltransferasa glicerofosfato, por lo que son incapaces de sintetizar fosfatidilglicerol de novo <sup>(8)</sup>. Ha habido reportes esporádicos de que los cuerpos laminares sintetizan fosfatidilcolina disaturada por remodelación de síntesis de 1 saturado 2 no saturado fosfatidilcolina de novo <sup>(1)</sup>. La evidencia sin embargo no es convincente. En suma estos estudios bioquímicos y morfológicos estudiaban un rol para los cuerpos laminares en el almacenamiento, secreción y síntesis de surfactante.

Como en otros órganos el sitio subcelular de síntesis de fosfatidilcolina en el pulmón parece ser el retículo endoplásmico. Las enzimas-claves en la síntesis de fosfatidilcolina, colinosfototransferasa <sup>(1)</sup> glicerofosfatoaciltransferasa <sup>(9)</sup>, se han demostrado casi exclusivamente localizados a los microsomas, mientras otras enzimas tales como fosfatasa fosfatídica y citidiltransferasa colinosfato <sup>(1)</sup>, se encuentran en los microsomas así como en fracciones subcelulares adicionales.

La fosfatidilcolina disaturada es probablemente también sintetizada en el retículo endoplásmico ya que la enzima aciltransferasa y lisolecitina pulmonar es microsomal. Por otro lado, lisolecitinaciltransferasa está localizada en la fracción soluble, pero esta enzima no parece jugar un rol mayor en la síntesis de fosfatidilcolina disaturada en el pulmón.

La citidiltransferasa fosfatídica pulmonar es también una enzima microsomal <sup>(1)</sup>, así que la CDP diacilglicerol es sintetizada en el retículo endoplásmico, sugiriendo ésto que el surfactante fosfatidilglicerol es sintetizado en microsomas <sup>(1)</sup>. Esto es que en el pulmón y en otros órganos la biosíntesis de fosfatidilglicerol tiene lugar en la mitocondria. <sup>(1)</sup> La biosíntesis de fosfatidilinositol sin embargo, tiene lugar en el retículo endoplásmico a causa de que la CDP diacilglicerol inositol 3 fosfatidiltransferasa <sup>(1)</sup> es una enzima microsomal.

¿Si los fosfolípidos no son sintetizados en los cuerpos laminares, como pueden ellos llegar a estos organelos? A causa de que es conocido que la función del complejo de Golgi es ser fuente de varios componentes celulares y que los dirige a destinos intracelulares y extracelulares particulares, es posible que el material membranoso del retículo endoplásmico, mitocondria u otro gránulo citoplásmico, sea dirigido Vía Golgi a los cuerpos laminares; específicos de los cuerpos laminares puede ser depositado por estos mecanismos, sin embargo, una alternativa es que los fosfolípidos son transferidos del sitio de síntesis a los cuerpos laminares por una proteína específica transportadora de fosfolípidos.

Han sido demostradas proteínas con habilidad de transferir fosfolípidos, entre los órganos subcelulares en el pulmón intacto, y en células tipo II aisladas <sup>(1)</sup>.

Cuando menos tres de tales proteínas parecen existir en el pulmón; una específica para fosfatidilglicerol <sup>(1)</sup>; otra específica para fosfatidilcolina <sup>(1)</sup>; y una tercera, la cual puede transferir varios fosfolípidos incluyendo, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol, y fosfatidilserina <sup>(7)</sup>.

A pesar de que ésto intenta postular un rol fisiológico para tales proteínas en la transferencia de fosfolípidos a los cuerpos laminares y éstos en la producción de surfactante, no ha sido ésto probado experimentalmente.

## **BIOSÍNTESIS DE FOSFATIDILCOLINA DISATURADA**

La fosfatidilcolina disaturada puede ser sintetizada por cuando menos 3 mecanismos: de novo de diacilglicerol saturado en la reacción catalizada por fosfotransferasa de colina (fig. 1), o por remodelación de 1-saturado-2-insaturado fosfatidilcolina, la cual es la especie molecular más abundante.

dante en la síntesis de novo. Como se muestra en la fig. 1 hay por lo menos 2 patrones de remodelado. Ambos involucran el remover inicialmente el grupo acil insaturado en la reacción catalizada por fosfolipasa A2. El resultante 2-lisofosfatidilcolina es entonces reacilado en una reacilación directa con acil-coA catalizado por lisolecitín aciltransferasa o en una reacción de transacilación catalizada por lisolecitín aciltransferasa en la cual 2 moléculas de 2 lisofosfatidilcolina toman una molécula de fosfatidilcolina y glicerol-fosfatidilcolina. Hay evidencia de que pueden ocurrir los 3 mecanismos en el pulmón. ¿Cuál es el más importante cuantitativamente? Sin embargo, esto es lo menos claro. Estos datos sugieren fuertemente que la síntesis de fosfatidilcolina disaturada en el pulmón puede ocurrir vía el patrón de novo, pero esto no indica qué proporción de fosfatidilcolina disaturada es sintetizada por estos mecanismos. Post y col. (1) concluyen que los mecanismos de novo y de remodelación contribuyen a la síntesis de fosfatidilcolina disaturada en las células tipo II. De los dos mecanismos de remodelación hay evidencia substancial de que la reacilación (catalizada por lisolecitín aciltransferasa) es mucho más importante que la reacción de transacilación. Esto demostró que los mecanismos de reacilación eran responsables de la síntesis de la nueva fosfatidilcolina (1,3). Van Heuasen y col. (1), y Mason y Dobbs (1) muestran que los mecanismos de reacilación fueron los más importantes en tejidos de pulmón de rata y en las células tipo II.

Palmitoil CoA es el ácido donador preferido para lisolecitín aciltransferasa en el tejido de pulmón de rata y las células tipo II (1). A pesar de que estos datos favorecen la reacilación como el mayor mecanismo remodelante en pulmón adulto, que da la posibilidad de que los mecanismos de transacilación puedan tener importancia particular en el pulmón fetal. La lisolecitín; lisolecitín aciltransferasa de pulmón fue reportada que es estimulada por glucocorticoides en un estudio en conejo fetal (1). Pero aún es difícil visualizar un rol importante para la lisolecitín; lisolecitín aciltransferasa en el pulmón fetal en la síntesis de fosfatidilcolina disaturada. Sin embargo, la importancia de la lisolecitín aciltransferasa no está tampoco bien establecida.

## FOSFATIDILGLICEROL Y FOSFATIDILINOSITOL

Hay una relación inversa entre las cantidades de fosfatidilglicerol y fosfatidilinositol en el surfactante. En el pulmón en desarrollo la cantidad de

fosfatidilglicerol en el surfactante aumenta a la vez que la cantidad de fosfatidilinositol disminuye, el significado funcional de este switch no es claro. Por otro lado, el fosfatidilglicerol es reportado ser un componente esencial del surfactante a causa de que siempre estuvo ausente en el Síndrome de Dificultad Respiratoria (SDR), a pesar de que el fosfatidilinositol estuvo presente. La cantidad de fosfatidilglicerol y fosfatidilinositol en líquido amniótico puede ser usado junto con el promedio de fosfatidilcolina/esfingimielina (L/E) y la cantidad de fosfatidilcolina disaturada para lograr determinar la madurez total pulmonar en niños <sup>(1)</sup>. Por otro lado, Beppy y col. <sup>(1)</sup> reportaron que no hay diferencias funcionales entre surfactante que contiene fosfatidilglicerol y fosfatidilinositol en conejos adultos sugiriendo que los 2 lípidos fueran intercambiables. Como se muestra en la Fig. 1, fosfatidilglicerol y fosfatidilinositol son ambos sintetizados por CDP diacilglicerol. Cuando menos dos mecanismos han sido propuestos para controlar el switch de fosfatidilinositol a fosfatidilglicerol durante el desarrollo fetal pulmonar. Hay un decremento en los niveles de inositol en suero en el feto hacia el final de la gestación <sup>(1)</sup> y los niveles de inositol han sido reportados para regular la síntesis de fosfatidilinositol y fosfatidilglicerol.

Hallman y Epstein <sup>(1)</sup> muestran que agregando inositol a los microsomas de pulmón adulto de conejo se estimula la síntesis de fosfatidilinositol pero también se inhibe completamente la síntesis de fosfatidilglicerol cuando la cantidad de CDP diacilglicerol era limitada. Agregando inositol al agua que los conejos consumen normalmente permite al surfactante contener 8.5% de fosfatidilinositol y 0.3% de fosfatidilglicerol comparado con 3.2% de fosfatidilinositol y 5.6% fosfatidilglicerol en animales que tomaban glucosa <sup>(1)</sup>. La adición de inositol al medio de cultivo ha sido también reportada como estimulante de la síntesis de fosfatidilinositol e inhibidor del fosfatidilglicerol en las células tipo II <sup>(1)</sup>.

En un mecanismo alternativo sugerido por Bleasdale y col. <sup>(1)</sup>, el aumento en la síntesis de fosfatidilcolina vía la reacción con fosfatotransferasa resulta en un incremento en la generación de CMP (reacción 1). El aumento de CMP entonces se dirige hacia la reacción CDP diacilglicerol inositol 3-fosfatidiltransferasa en la dirección inversa, con un aumento consecuente en la síntesis de CDP-diacilglicerol (reacción 2). Esto es entonces:

CDP colina + diacilglicerol = fosfatidilcolina + CMP (reacción 1).  
CDP diacilglicerol + inositol = fosfatidilinositol + CMP (reacción 2)  
disponible para el aumento en la síntesis de fosfatidilglicerol.

Este mecanismo es soportado por las siguientes líneas de evidencia:

La actividad pulmonar de CDP diacilglicerol-inositol 3 fosfatidiltransferasa es reversible. Hay un aumento en el desarrollo en la cantidad de CMP en el pulmón fetal de conejo <sup>(1)</sup>.

El CMP estimula la síntesis de fosfatidilglicerol (C 14) glicerol 3 fosfato en los microsomas de pulmón de conejo <sup>(1)</sup>. Los datos de Batenburg y col. <sup>(1)</sup> sin embargo arguyen contra éste mecanismo. Ellos muestran que a pesar de que hay un incremento en el promedio de síntesis de fosfatidilglicerol en las células tipo II cuando la síntesis de fosfatidilcolina fue estimulada, hay también un incremento más que un decremento en la síntesis de fosfatidilinositol. La citidiltransferasa fosfatídica en pulmón no fue afectada por glucocorticoides y hormonas tiroideas en el feto de rata <sup>(1)</sup> o por estrógenos en el conejo fetal <sup>(1)</sup>. Un rol regulador de esta, sin embargo, no está establecido.

#### **PAPEL DE SUBSTRATOS Y ENZIMAS EN LA REGULACION DE LA BIOSINTESIS DE FOSFATIDILCOLINA**

Según ya señalamos, son la interacción cooperativa de la vía de incorporación de colina y la secuencia metabólica que lleva a la formación del glicérido, las que producen el compuesto final. Por lo tanto, unas seis enzimas y cinco compuestos intermedios intervienen convirtiendo colina, glicerol y ácidos grasos en fosfatidilcolina <sup>(3)</sup>.

En teoría, la cantidad global de incorporación de colina podría controlarse por ajustes de la actividad enzimática o alterando la concentración de sustratos.

Desafortunadamente disponemos de muy poca información acerca de la disponibilidad de sustrato en el pulmón fetal <sup>(3)</sup>. El concepto de que la colina pueda ser un compuesto estimulante no demuestra la existencia de mecanismos de control de retroalimentación mediados por sustratos.

Las mediciones de colina libre, o sea colina que no forma parte de los lípidos, las han efectuado Gail y Farrel en rata, no observando diferencias

significativas en fetos de diferentes edades. Togary y Farrell<sup>(3)</sup>, en estudio con fetos de conejo indicaron que los cambios en las concentraciones de colina son más importantes a medida que se produce el desarrollo pulmonar. Sin embargo, comparando los valores del fondo común de colina libre con la cantidad de colina esterificada en el producto final, se deduce que para explicar el cambio que tiene lugar en la concentración de fosfatidilcolina del pulmón fetal durante el final del embarazo tiene que llegar a la vía un aumento notable de aporte de colina. Kotas y col.<sup>(3)</sup>, y Togary y Farrell<sup>(3)</sup> recientemente han obtenido datos que indican que la inyección prolongada de colina a fetos de conejo puede estimular la producción de fosfatidilcolina saturada.

Si estos datos preliminares se confirman, la deducción sería que la vía es susceptible de regulación mediada por sustrato en la etapa inicial de la secuencia metabólica.

La colina en sí misma se deriva de fuentes dietéticas. La colina libre no es sintetizada por los sistemas mamíferos, a pesar de que algunos órganos la pueden sintetizar en forma de fosfatidilcolina por triple N-metilación de fosfatidiletanolamina<sup>(1)</sup>. De las enzimas involucradas en el patrón de incorporación de colina, hay una evidencia substancial de que el paso limitante es catalizado por citidiltransferasa de fosfato de colina en pulmón, en otros sistemas mamíferos y aún en plantas<sup>(1)</sup>. Sin embargo el promedio regulador de los roles de la cinasa de colina, fosfotransferasa de colina y fosfatidil fosfatasa han sido propuestos también.

#### CITIDILTRANSFERASA DE FOSFATO DE COLINA

Hay una correlación entre el incremento de actividad de citidiltransferasa de fosfato de colina y un aumento en los promedios de síntesis de fosfatidilcolina en pulmón fetal y de recién nacido<sup>(12)</sup>. La correlación entre la actividad incrementada de citidiltransferasa y la síntesis aumentada de difosfatidilcolina ha sido demostrada en varios estudios. Un número de hormonas tiroideas, cortisol y estrógenos aceleran la maduración fetal pulmonar y estimulan la proporción de incorporación de colina dentro de fosfatidilcolina en las placas de pulmón o trasplantes en cultivo; tales hormonas también incrementan la actividad de la citidiltransferasa. El antagonismo entre los efectos del cortisol e insulina en la síntesis de fosfatidilcolina en el pulmón fetal<sup>(12,13)</sup> puede ser expresado, cuando menos en parte, a nivel de citidiltransferasa de fosfato de colina ya que la insulina

parte en dos el efecto estimulador de la dexametasona en la citidiltransferasa en los trasplantes de pulmón fetal de rata <sup>(1)</sup>.

Diversos estudios sugieren fuertemente que la citidiltransferasa de fosfato de colina cataliza la reacción promedio limitante en la síntesis de novo de fosfatidilcolina en células tipo II <sup>(1)</sup>. Evidencias posteriores para apoyar esto deberán ser la demostración de la actividad alterada de citidiltransferasa de fosfato de colina en asociación con la síntesis alterada de fosfatidilcolina. Tales estudios no están disponibles actualmente en el caso de células tipo II.

La citidiltransferasa de fosfato de colina se encuentra en fracciones microsomales y citosólicas subcelulares y en un número de sistemas de mamíferos no pulmonares ha sido sugerido que la actividad fisiológica de la enzima es en los microsomas y que la actividad en el citosol representa una forma de almacenamiento <sup>(1)</sup> menos activa, pero ni el incremento en la actividad o la redistribución entre citosol y microsomas es dependiente de la síntesis de proteínas <sup>(1)</sup>. Estos datos han sido interpretados para significar que la citidiltransferasa es translocada desde el citosol donde está relativamente inactiva a los microsomas donde es activada por asociación con los lípidos de la membrana. Se ha propuesto que la translocación ha sido regulada por lo menos por dos mecanismos: asociación con ácidos grasos y defosforilación. Los ácidos grasos libres estimulan la actividad de la citidiltransferasa citosólica en hígado de rata y pulmón medida in vitro, mientras que los ácidos grasos estimulan la síntesis de fosfatidilcolina y la actividad microsomal de la citidiltransferasa en cultivos de hepatocitos de rata <sup>(1)</sup>. La citidiltransferasa citosólica es activada por defosforilación e inactivada por fosforilación, en el hígado de rata <sup>(1)</sup>. Breves exposiciones a AMP cíclico activan la cinasa de proteínas y esto la fosforilación, inhiben la síntesis de fosfatidilcolina y la citidiltransferasa microsomal en hepatocitos de rata <sup>(1)</sup>. A pesar de que un efecto directo de fosforilación/defosforilación en la citidiltransferasa por sí misma como una posible proteína reguladora no fue demostrada, tal regulación es consistente con el patrón general en el cual las enzimas que se involucran en reacciones biosintéticas son activadas por defosforilación y aquellas involucradas en el catabolismo por fosforilación <sup>(1)</sup>.

A pesar de que la teoría de la translocación es atractiva y la evidencia previamente discutida puede ser usada para apoyar esto, hay también datos en contra de esto. Primero, en muchas situaciones en donde hay

un cambio en la actividad de la citidiltransferasa microsomal en asociación con síntesis alterada de fosfatidilcolina, hay un cambio similar en la actividad citosólica <sup>(1)</sup>. Segundo, es conocido que los lípidos exógenos activan y causan agregación de las enzimas citosólicas in vitro y hay evidencia de que los lípidos endógenos median los efectos estimulatorios de la dieta alta en colesterol: en la citidiltransferasa citosólica de hígado y de los estrógenos en la citidiltransferasa citosólica de pulmón <sup>(1)</sup>. Los lípidos aumentan el peso molecular de las enzimas citosólicas en hígado de 200,000 a una media de  $1.3 \times 10^6$  <sup>(1)</sup>. Es posible que tan grandes agregados lleguen a ser asociados con la fracción microsomal en fracción subcelular. En el caso del pulmón, la mayor parte de las evidencias favorecen un rol regulador para la enzima del citosol más que para citidiltransferasa microsomal <sup>(1)</sup>. El aumento en el desarrollo en la actividad de citidiltransferasa neonatal y fetal ha sido observado en la fracción citosólica. Este aumento ha sido reportado ser un tanto 3-6 veces más y a pesar de que un aumento similar fue reportado en los microsomas, éste no fue mayor que en citosol <sup>(1,8)</sup>. El efecto estimulador de los glucocorticoides, estrógenos y hormona tiroidea han sido observados en la citidiltransferasa citosólica. Estudios con estrógenos en el conejo fetal sugieren fuertemente que el efecto estimulador de esta hormona en la citidiltransferasa citosólica del pulmón es debida a un incremento en la activación de la enzima existente, más que un aumento en la cantidad de enzimas proteínicas sintetizadas. La actividad citosólica de la citidiltransferasa es aumentada varias veces por la inclusión de fosfatidilglicerol o de otros fosfolípidos ácidos en la mezcla de ensayo <sup>(1,8)</sup>. Si la cantidad de enzimas proteicas fue aumentada por los estrógenos, uno puede esperar que el efecto estimulador de las hormonas pueda ser observado en presencia o ausencia de fosfatidilglicerol. El efecto estimulador sin embargo, no fue observado en presencia de fosfatidilglicerol <sup>(1,8)</sup>. Los efectos estimuladores de los glucocorticoides y la triyodotironina en la actividad de la citidiltransferasa citosólica en pulmón fetal de rata fueron simultáneamente no aparentes en presencia de fosfatidilglicerol <sup>(1,8,13)</sup>. La actividad de la citidiltransferasa citosólica en pulmón fetal de conejo fue drásticamente reducida por la extracción con acetona/butanol y esto también abolió el efecto estimulador de los estrógenos <sup>(1,8)</sup>.

La actividad enzimática, así como el efecto estimulador de las hormonas fue restaurado por la adición de los lípidos citosólicos de pulmón fetal control, adicional o tratado con estrógenos. Sólo la fracción de fosfolípi-

dos restaura la actividad enzimática; los ácidos grasos endógenos u otros lípidos neutrales y fracciones de glucolípidos no lo estimulan. Estos datos sin embargo demuestran que el efecto estimulador de los estrógenos en la citidiltransferasa citosólica es mediado por los fosfolípidos. Estudios posteriores serán necesarios para identificar la identidad química precisa del activador de los fosfolípidos y para determinar si un mecanismo similar es aplicado en el caso de glucocorticoides y hormonas tiroideas.

En suma, hay buena evidencia de que la citidiltransferasa juega un rol regulador en la síntesis de fosfatidilcolina en el pulmón y en otros órganos. La actividad de la citidiltransferasa en sí misma puede ser regulada por un número de mecanismos incluyendo: fosforilación/defosforilación, niveles de ácidos grasos, fosfolípidos, y translocación de citosol a microsomas, a pesar de que los datos con estrógenos en el conejo fetal sugieren que la citidiltransferasa es regulada por fosfolípidos endógenos, estudios posteriores serán necesarios para determinar si este mecanismo se aplica al pulmón generalmente, o sólo al pulmón fetal, o a la síntesis de fosfatidilcolina inducida por estrógenos. A pesar de que los lípidos son conocidos por activar una variedad de enzimas <sup>(1)</sup> ellos no están generalmente implicados en la regulación de la síntesis de fosfolípidos.

#### **CINASA DE COLINA**

Es la enzima que cataliza la primera reacción de la biosíntesis de fosfatidilcolina, siendo la mejor estudiada del tejido pulmonar. Aislada del citosol y examinando sus propiedades cinéticas se concluyó que cataliza la fosforilación de colina y etanolamina. Así, dos vías de novo comparten la misma enzima inicial, pero la cinasa de colina está dispuesta cinéticamente para actuar sobre la colina más bien que sobre la etanolamina <sup>(3)</sup>, lo que traduce la predominancia de la vía en la biosíntesis de novo en la fosfatidilcolina pulmonar. Estudios realizados en los neumocitos tipo II demuestran que la cinasa de colina no está saturada in vivo y que probablemente por un aumento en la concentración de la actividad de enzima pulmonar, entre la semana 28 y 34 de la gestación, hay un aumento cerca del término. Han sido también propuestas otras enzimas para la regulación de la síntesis de fosfatidilcolina y hay poca evidencia de que la cinasa de colina juega un rol regulador en el pulmón. La actividad de la cinasa de colina no aumenta en el mecanismo de aumento de síntesis de fosfatidilcolina en el pulmón fetal en desarrollo, y esta no está aumen-

tada por estrógenos <sup>(1)</sup>, glucocorticoides, u hormona tiroidea <sup>(11)</sup>, todas las cuales aumentan la síntesis de fosfatidilcolina en pulmón fetal. El tamaño de la poza metabólica es también un argumento contra un rol limitante de la cinasa de colina en pulmón intacto y en células tipo II <sup>(12)</sup>.

#### **TRANSFERASA DE FOSFATO DE COLINA**

Cataliza la esterificación de la porción fosforilcolina de la molécula de CDP colina con diacilglicéridos, reacción clave. No se ha purificado del tejido pulmonar <sup>(3)</sup> debido a que la enzima está fuertemente unida a la fracción microsomal y al utilizar técnicas de disociación tiende a perder su actividad en forma irreversible. De los datos de la actividad de CPT contra diglicéridos saturados se deduce que esta enzima probablemente no es la causa de la formación preferencial de fosfatidilcolina saturada. Otros estudios confirman la conclusión de que la vía de colina per se tiene una capacidad limitada de sintetizar moléculas de fosfatidilcolina disaturada. Farrell y col. <sup>(14,15)</sup> reportan que la actividad de esta enzima fue aumentada por los glucocorticoides en conejo fetal y en pulmón de ratos fetales anencefálicas. Un posible rol regulador para la fosfotransferasa de colina en la síntesis de fosfatidilcolina en pulmón no pudo ser registrado aún y estudios posteriores de la enzima serán necesarios.

#### **FOSFATASA DEL FOSFATIDATO.**

A causa de que los ácidos fosfatídicos ocupan una posición central en la biosíntesis de fosfolípidos, no es sorprendente que un rol regulador haya sido propuesto para la fosfatasa fosfatídica. A pesar de que hay evidencia en favor de dicho rol, no ha sido establecido definitivamente aún en el pulmón o en otros órganos. Cuando menos 4 distintas fosfatasa fosfatídicas han sido reportadas por Possmayer y su grupo <sup>(1)</sup> en pulmón de rata, activas en el citosol y microsomas que hidrolizan la dispersión acuosa y la membrana unida a ácido fosfatídico. Y a pesar de que hay diferencias en las propiedades en varias de sus actividades, no es claro si representan enzimas separadas <sup>(1)</sup> y tampoco no es claro cual actividad es responsable de la síntesis de fosfatidilcolina.

**PRODUCCION DE DIACILGLICERIDOS.**  
**- PAPEL DE LOS PRECURSORES CIRCULANTES.**  
**- ACIDOS GRASOS DEL PLASMA.**

La fuente principal de ácidos grasos para el metabolismo del pulmón parece ser la de los ácidos grasos plasmáticos. Sin embargo, no conocemos cuál sea la contribución relativa de ácidos grasos libres (FFA) y ácidos grasos de triacilglicéridos circulantes (TG-FA) al metabolismo del pulmón y a la síntesis de surfactante. En el torrente vascular, los FFA forman complejos con la albúmina y pueden cruzar fácilmente la pared capilar e incorporarse al fosfolípido, como se ha demostrado repetidamente con estudios de radioisotopos. Los triacilglicéridos por otra parte, son transportados en forma de grandes partículas, (quilomicrones), o en lipoproteínas de muy baja densidad, las cuales no pueden cruzar el endotelio capilar en la mayor parte de tejidos extrahepáticos <sup>(3)</sup> incluyendo los pulmones <sup>(3)</sup>. La captación de TG-FA depende de una hidrólisis previa dentro del endotelio capilar por la enzima lipasa de lipoproteína <sup>(3)</sup>. La presencia de actividad de lipasa de lipoproteína (LTL) en el pulmón, indica que los TG-FA son utilizados por el tejido; de hecho, TG-FA introducidos en los pulmones aparecen rápidamente en la fracción de fosfatidilcolina <sup>(16)</sup>. Por lo tanto, hay dos mecanismos para proporcionar ácidos grasos plasmáticos destinados a la producción de diacilglicéridos: Síntesis de Novo de Ácidos Grasos y Conversión de glucosa a glicerol.

**SINTESIS DE NOVO DE ACIDOS GRASOS.**

Conocemos muy poco acerca de la capacidad del pulmón fetal para sintetizar de nuevo los precursores tempranos de lípidos precursores de fosfatidilcolina, en particular de ácidos grasos.

La síntesis de novo, vía biosintética principal <sup>(17)</sup> requiere de dos sistemas enzimáticos, carboxilasa de acilCoA y sintetasa de ácido graso. Ambos se han descubierto en el pulmón fetal, sin embargo el alargamiento de la cadena de ácido graso es poca en el pulmón fetal y del neonato. La vía para síntesis de novo de ácidos grasos origina primariamente de palmitato y parece "madurar" en una fase relativamente temprana de la gestación <sup>(17)</sup>.

## GLUCOSA Y GLICEROL.

La glucosa es metabolizada en el pulmón del adulto principalmente a lactato y CO<sub>2</sub>; sólo en cantidades mínimas se convierte en lípidos (17). Sin embargo en el tejido pulmonar fetal la biosíntesis de lípidos a partir de la glucosa es el triple que en el adulto; además una parte importante, 60% de los átomos de carbono de la glucosa que van a parar a los lípidos, está incorporado a los ácidos grasos. En todas las demás edades, la glucosa es principalmente un precursor de glicerol de lípidos y sólo una cantidad relativamente pequeña (10 al 15%) se incorpora en ácidos grasos de glicéridos (3).

Como los carbonos de la glucosa están incorporados principalmente en fosfolípidos (74 a 80%) la incorporación de 7 a 8 veces mayor de glucosa en ácidos grasos durante el período fetal y neonatal pudiera tener una significación especial para la biosíntesis de surfactante (2). Gilden y col. (18) han señalado que la administración de cortisol a fetos de conejo aumenta la incorporación de glucosa en la fosfatidilcolina del pulmón. Además Shaw y Rhodes empleando un sistema de pulmón perfundido han obtenido datos que sugieren que la hipoglucemia puede originar una síntesis muy disminuida de ácidos grasos incorporados a fosfolípidos. En condiciones normales la porción glicerol de la fosfatidilcolina proviene de la glucosa (18), sin embargo en el pulmón fetal y del neonato, cuando un número mayor de carbonos de la glucosa pasa a los ácidos grasos, el glicerol circulante pudiera pasar a ser un precursor de fosfolípido pulmonar (19). Como las concentraciones sanguíneas de glicerol aumentan notablemente, como parte de la transición de feto a neonato, es posible que el glicerol sirviera de sustrato importante durante los primeros días de vida. Precursores tales como la glucosa y el glucógeno son incorporados dentro de los fosfolípidos después del catabolismo a fosfato de hidroxiacetona. El glicerol puede ser incorporado como glicerol 3 fosfato después de la fosforilación por la cinasa de glicerol a pesar de que la cinasa de glicerol se pensó inicialmente que estaba ausente del tejido pulmonar, una actividad significativa que fue demostrada en células tipo II (1). Estos sustratos pueden también ser metabolizados a acetilCoA y convertidos en ácidos incorporados a los pasos de acilación. Los ácidos grasos exógenos pueden ser incorporados similarmente. Hay evidencia de que ambos mecanismos del metabolismo de fosfato de hidroxiacetona operan en el tejido pulmonar y en las células tipo II (1).

### 3.-INFLUENCIA DE LAS HORMONAS Y OTROS AGENTES FISIOLÓGICOS EN LA MADURACION FETAL PULMONAR Y LA PRODUCCION DE SURFACTANTE.

El efecto estimulador de algunos de éstos ha sido demostrado en varias especies por una variedad de criterios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos. Estos agentes sin embargo, expresan sus efectos en el pulmón directamente. Otros pueden influir indirectamente por vía de otros órganos. Hay evidencia de que algunos de estos agentes están involucrados en la regulación fisiológica de la maduración fetal pulmonar y producción de surfactante, mientras que otros pueden no tener un rol fisiológico y sólo afectar el pulmón cuando son administrados exógenamente. Algunos de los agentes influyen en la producción de surfactante en el feto y el adulto, y otros afectan sólo al feto y no tienen efecto en el adulto. Un número de agentes han sido reportados para prevenir SDR pulmonar en niños. Los glucocorticoides son ampliamente usados clínicamente con éste propósito y el uso de la hormona tiroidea junto con los glucocorticoides es contemplado actualmente. Los agentes hormonales pueden ser clasificados convenientemente dentro de dos grupos: aquellos que primariamente afectan síntesis de surfactante y aquéllos que primariamente afectan su secreción. Claramente hay alguna relación entre síntesis y secreción, sin embargo, los efectos directos en un proceso pueden afectar el otro indirectamente.

Además, algunos agentes pueden influir en ambos procesos directamente, a pesar de que ésto no está bien documentado todavía. Mientras algunos agentes han sido estudiados extensivamente, el mecanismo de acción de otros está menos bien establecido. Esto es, mientras que los glucocorticoides, estrógenos y hormona tiroidea pueden ser confiablemente de efectos primarios en la síntesis, los beta adrenergicos y agonistas colinergicos afectan principalmente la secreción. El papel o función de algunos otros agentes es más arbitrario.

Hay evidencia de antagonismo entre la acción de glucocorticoides e insulina en la producción fetal de surfactante pulmonar. Los niveles de insulina son mayores en hijos de madres diabéticas y tales niños son propensos a SDR. La insulina puede ser, aún más, la hormona que tiene un efecto inhibitor en la maduración fetal pulmonar.

## **AGENTES QUE ESTIMULAN LA SINTESIS DE SURFACTANTE. GLUCOCORTICOIDES.**

Los glucocorticoides son los agentes más extensamente estudiados. En el conejo fetal por ejemplo, han mostrado acelerar la maduración fetal pulmonar y estimular la producción de surfactante, por virtualmente todos los criterios disponibles, efectos que han sido demostrados tanto *in vivo* como *in vitro*. Hay evidencia de que el efecto estimulador de los glucocorticoides en la síntesis de fosfatidilcolina en estas especies es mediado por receptores específicos<sup>(20)</sup>. Las evidencias sugieren que los glucocorticoides juegan un rol fisiológico en la regulación de la producción de surfactante en el feto humano y de otras especies, por ejemplo, la metopirona, inhibidor de la síntesis de cortisol, ha sido reportado como inhibidor de la producción de surfactante en el feto en varias especies<sup>(20)</sup>. Los glucocorticoides estimulan la actividad de la colin fosfato citidiltransferasa y otras enzimas en la biosíntesis de fosfolípidos en el pulmón fetal, y a pesar de que el efecto estimulador de esta hormona en la síntesis de fosfatidilcolina en pulmón fetal es un proceso mediado y dependiente de la síntesis de proteína<sup>(20)</sup>, el gen productor de este incremento no ha sido todavía identificado. Como se discutió anteriormente, la actividad de la citidiltransferasa puede ser aumentada por un número de mecanismos posibles, así que no es necesario que la cantidad de esta proteína o de otra enzima de la síntesis de fosfolípidos esté aumentada; ya que un activador u otro modificador de proteína puede bien estar aumentado por la hormona. A pesar de que los receptores de glucocorticoides han sido demostrados en las células tipo II, hay evidencia de que la hormona no actúa directamente sobre ellas, pero sí en los fibroblastos que producen un péptido llamado Factor Neumocisto Fibroblasto (FPF), el cual entonces estimula la producción de surfactante por las células tipo II, las cuales responden libremente al cortisol a menos que los fibroblastos o FPF estén presentes<sup>(1)</sup>.

## **HORMONA TIROIDEA Y LIBERACION DE HORMONA TIROTROPINA.**

La hormona tiroidea ha sido reportada que acelera la maduración fetal pulmonar en 4 especies mamíferas, incluyendo los humanos, por criterio morfológico, físico de superficie y bioquímico. Los receptores de la hormona tiroidea han demostrado estar presentes en pulmón e incrementar el desarrollo hacia el final de la gestación<sup>(22)</sup>. La hormona tiroi-

decreta aumenta la síntesis de fosfatidilcolina en cultivo de trasplantes de pulmón de rata fetal <sup>(11)</sup> y en células mezcladas de pulmón de conejo fetal <sup>(1,23)</sup>. Si la hormona tiroidea juega un rol fisiológico en la maduración fetal pulmonar y en la producción de surfactante, esto permanece por ser establecido. Es notable, sin embargo que tan bajos niveles de hormona tiroidea fueron encontrados en asociación con SDR <sup>(24)</sup> y que la tiroidectomía fue reportada que retarda la maduración fetal pulmonar en oveja fetal <sup>(25)</sup>. La hormona tiroidea generalmente no cruza la placenta así que ha sido administrada directamente al conejo fetal durante una laparoscopia con anestesia general en la madre <sup>(1)</sup>. Procedimiento en si mismo que resulta en una aceleración de la maduración del pulmón fetal <sup>(1)</sup> posiblemente vía un mecanismo mediador de stress, así que los efectos de la hormona tiroidea deben ser aún marcados. Cuando menos tres acercamientos han sido realizados para vencer este problema. La triyodotironina ( $T_3$ ) cruza la placenta de rata en algún grado, y Gross y col. <sup>(11)</sup> reportan que la administración materna de  $T_3$  aumenta la síntesis de fosfatidilcolina en pulmón de rata fetal. La hormona tiroidea sintética análoga 3'-5'-dimetil-5-isopropil-L-Tironina (DIMIT) también cruza la placenta, y Ballard y asociados <sup>(1)</sup> administraron esto a conejos preñados reportando un aumento en la síntesis de fosfatidilcolina y disminución en el contenido de glucógeno en pulmones fetales.

Un acercamiento mayor fue incrementar la producción de hormona tiroidea fetal por administración a la madre de hormona liberadora de tirotrópina (TRH) tripeptídico que cruza la placenta. TRH aumenta la cantidad de fosfolípidos en pulmón lavado de conejo fetal pero no tuvo efecto en la síntesis de fosfatidilcolina <sup>(26)</sup>. Este efecto, sin embargo, parece ser primario en la secreción de surfactante más que en la síntesis, y este efecto fué diferente del de las hormonas tiroideas. Si el TRH fue activado vía la hormona tiroidea en este estudio, sin embargo no es claro porque los niveles de hormona tiroidea no fueron medidos. La TRH también incrementa la producción de prolactina así que puede estar actuando vía esta hormona o puede también tener un efecto directo en el pulmón fetal <sup>(1)</sup>. A causa de que los glucocorticoides no son completamente efectivos en prevenir SDR en niños <sup>(1)</sup>, hay un interés actual en el uso de una combinación de hormona tiroidea y glucocorticoides para este propósito. En un estudio la tiroxina intra-amniótica fué reportado que disminuye la incidencia de SDR, pero en otro ensayo clínico intra-amniótico  $T_3$  fué reportado inefectivo <sup>(1)</sup>. Interacciones entre los glucocorticoides y la hormona tiroi-

dea en la aceleración de la maduración fetal pulmonar han sido examinados en animales. Hitchcock<sup>(1)</sup> reportó en un estudio morfológico en la rata fetal que el efecto estimulador de la tiroxina en la maduración pulmonar fué máximo en presencia de glucocorticoides. Grosa y Wilson<sup>(1)</sup> reportaron que el efecto de la dexametasona y T<sub>3</sub> en la síntesis de fosfatidilcolina en transplantes de pulmón de rata fetal fueron supra aditivos, sugiriendo diferentes mecanismos de acción. Un efecto supra aditivo fué también reportado en pulmones de rata fetal in vivo<sup>(11)</sup>. Smith y Sabry<sup>(1)</sup> sugieren que el efecto sinérgico entre estas dos hormonas es debido a la acción de los glucocorticoides en el mecanismo para producir FPF y la hormona tiroidea entonces potencializa el efecto de FPF en las células tipo II.

#### **PROLACTINA.**

Niveles bajos de prolactina en sangre de cordón fueron reportados en asociación con SDR en humanos<sup>(29)</sup>. Hay un aumento en el desarrollo de los niveles de prolactina en sangre fetal en humanos y en ovejas<sup>(1)</sup> que precede al aumento en los promedios de Lecitina/Esfingomielina L/E en líquido amniótico. Tales datos permiten la especulación de que la prolactina puede jugar un rol en la producción de surfactante. Evidencia para reforzar esta idea viene del estudio de Hamosh y Hamosh<sup>(1)</sup> quienes reportaron que la prolactina aumenta la cantidad de fosfatidilcolina iuviv y disaturada en tejidos de pulmón de conejo fetal. Los fosfolípidos de pulmón lavado no fueron examinados sin embargo. Más apoyo viene del estudio de Giussi y col., quienes reportan que la bromocriptina, un inhibidor de la producción de prolactina por la pituitaria, disminuye la cantidad de fosfolípidos en el lavado de pulmón de conejo fetal. La prolactina fué también reportada que estimula la síntesis de fosfolípidos, ya sea sola<sup>(1)</sup> o en combinación con otras hormonas en células A549<sup>(1)</sup>. Finalmente los receptores de prolactina han sido demostrados en pulmón fetal y de adulto<sup>(31,33)</sup>. Un rol para la prolactina en la maduración fetal pulmonar no está claramente establecido.

#### **OTRAS HORMONAS, PEPTIDOS Y FACTORES DE CRECIMIENTO.**

Además de TRH, FPF y prolactina, otros péptidos han sido reportados que influyen en la maduración fetal pulmonar. La corticotropina (ACTH) acelera la maduración fetal pulmonar en el conejo y oveja, y a pesar de

que los niveles de cortisol fueron incrementados es posible también que ACTH pueda tener un efecto directo en el pulmón <sup>(1)</sup>. Factores de crecimiento epidérmico (EGF) fueron reportados que aceleran la maduración fetal pulmonar en conejo y oveja <sup>(1)</sup>. El receptor EGF fué reportado en el pulmón de conejo fetal y en células tipo II de ratas adultas <sup>(1)</sup> y los receptores EGF fueron incrementados por glucocorticoides en pulmón fetal de conejo <sup>(1)</sup>. Gross y Dynia <sup>(34)</sup>, recientemente reportan que el EGF aumenta la síntesis de fosfatidilcolina en transplantes de pulmón de rata fetal. Y a causa de que este efecto estimulador fué no aditivo con el efecto de la dexametasona, ellos sugieren que EGF puede cuando menos parcialmente mediar la acción de los glucocorticoides en la maduración fetal pulmonar. Una variedad de péptidos biológicamente activos han sido recientemente encontrados en el cerebro e intestino, y a causa de que el pulmón se desarrolla en el intestino anterior embrionario, no es sorprendente que algunos de éstos hayan sido encontrados en pulmón. Esto incluye péptido intestinal vasoactivo (VIP), sustancia P, péptido de liberación gástrica y serotonina <sup>(1)</sup>.

#### INSULINA.

Los hijos de madres diabéticas tienen una alta incidencia de SDR en comparación con los hijos de madres normales <sup>(35,36)</sup>. Los fetos están hiperglicémicos e hiperinsulinémicos a causa de que la glucosa cruza libremente la placenta de la madre al feto y el páncreas fetal produce aumento de insulina en respuesta a la hiperglicemia resultante.

La maduración pulmonar en fetos de madres diabéticas han sido estudiados en modelo animal. Los fetos de tales animales exhibieron maduración pulmonar retardada determinada por criterio morfológico <sup>(36,37)</sup>, mecanismos pulmonares <sup>(36)</sup>, actividad de superficie del lavado pulmonar <sup>(36)</sup> y contenido de fosfatidilcolina disaturada <sup>(36)</sup>, disminución en la síntesis de fosfatidilcolina pulmonar fetal <sup>(36,37,38)</sup>, fosfatidilcolina disaturada <sup>(36,47)</sup> y fosfatidilglicerol <sup>(36,38)</sup> y aumento en el contenido de glucógeno pulmonar <sup>(36,38,39)</sup>. Una disminución en las actividades de colin fosfato citidiltransferasa fue reportado en dos de tales estudios <sup>(36)</sup>. A pesar de que en algunos estudios el feto de animales diabéticos fué hiperglicémi-

co e hiperinsulinémico <sup>(36,39)</sup>, en otros el feto fué hiperglicémico pero no hiperinsulinémico <sup>(36,37,38)</sup>.

Los fetos de animales diabéticos también tienden a ser menores que los animales control <sup>(36,37,39)</sup> mientras que los fetos humanos de madres diabéticas son mayores para su edad gestacional, los modelos animales sin embargo no son necesariamente réplicas exactas de los desórdenes humanos.

En un intento por distinguir entre el efecto de la hiperglicemia y de la hiperinsulinemia, fetos de chongos fueron implantados con una minibomba inyectora osmótica que inyectaba insulina por un período de 20 días <sup>(1)</sup>, los fetos fueron hiperinsulinémicos, pero los niveles de glucosa permanecieron cercanos a lo normal. No había evidencia de retraso en la maduración fetal pulmonar determinada por análisis de fosfolípidos del lavado pulmonar o de síntesis de fosfatidilcolina en pulmón. Esto, junto con el hecho de que un retraso en la maduración fetal pulmonar fué observado en los fetos que fueron hiperglicémicos pero no hiperinsulinémicos puede sugerir que el retraso en la maduración pulmonar en niños de madres diabéticas es debido a hiperglicemia. Por otro lado, la hiperinsulinemia en presencia de hipoglicemia reduce la cantidad de surfactante en líquido traqueal de feto de oveja cateterizado crónicamente <sup>(40)</sup>. La infusión de glucosa tuvo el mismo efecto en este modelo <sup>(1)</sup> y también inhibió la respuesta de maduración de pulmón fetal al cortisol <sup>(1)</sup> pero la hiperglicemia fué acompañada por hiperinsulinemia. Un rol para la insulina en el retraso de la maduración; en niños de madres diabéticas no puede sin embargo ser una regla.

Los receptores de insulina han sido demostrados en el pulmón fetal <sup>(40)</sup>. La insulina sin embargo, actúa directamente en el pulmón fetal. Gross y col. <sup>(13)</sup> reportan que la insulina estimula la síntesis de los fosfolípidos de membrana a expensas de los fosfolípidos de surfactante en los trasplantes de pulmón de rata fetal. Neufeld y col. <sup>(42)</sup> reportan que el promedio de ácidos grasos y glucosa incorporada dentro de fosfatidilcolina disaturada en pulmón de conejo fetal fue inhibido cuando la insulina fué incluida en el medio de incubación. Engle y col. <sup>(1)</sup> reportaron que altas concentraciones de insulina inhiben la síntesis de fosfatidilcolina en células organotípicas tipo II cultivadas en pulmón de rata fetal. La insulina reduce el efecto estimulador de los glucocorticoides en la síntesis de fosfatidilcolina en células de pulmón de conejo fetal <sup>(12)</sup> y trasplantes de células de

rata fetales <sup>(13)</sup>. Hay evidencia de que este antagonismo puede ser al menos parcialmente expresado a nivel de colin fosfato citidiltransferasa <sup>(43)</sup>. En contraste con estos datos, la insulina unida al cortisol y prolactina estimula la síntesis de fosfolípidos en cultivos humanos de trasplantes de pulmón fetal <sup>(30)</sup>.

#### **AGENTES QUE ESTIMULAN LA SECRECIÓN DE SURFACTANTE.**

El mecanismo de secreción de surfactante ha sido menos extensamente estudiado que el de la síntesis. A pesar de que hay buena evidencia de que los cuerpos laminares son el sitio intracelular de almacenamiento de surfactante y microfotografías electrónicas de los cuerpos laminares secretando dentro del lumen alveolar han sido publicadas <sup>(1)</sup>, el mecanismo de tal secreción a nivel molecular no es bien entendido. La secreción de surfactante ha sido estudiada en un número de modelos experimentales incluyendo lavado pulmonar de animales fetales, recién nacidos y adultos, el lavado del pulmón adulto aislado y de recién nacido y placas de pulmón adulto y células tipo II de pulmón adulto en cultivos primarios <sup>(1)</sup>. A causa de que la secreción de surfactante es estimulada por el trabajo de parto y la ventilación <sup>(1)</sup>, el estudio de los mecanismos de tal estimulación permitirán precisar los reguladores fisiológicos de la secreción de surfactante.

Hay evidencia de que la secreción de surfactante es un proceso activo que también requiere  $Ca^{2+}$  y que los microtúbulos y microfilamentos están involucrados en la secreción de surfactante. En el pulmón fetal y de recién nacido hay evidencia de que la secreción de surfactante es estimulada por  $\beta$  adrenergicos y agonistas colinérgicos y prostaglandinas. Tales agentes pueden jugar un rol fisiológico en la producción de surfactante a causa de que parecen mediar el aumento en la ventilación y trabajo de parto induciendo aumento en la secreción de surfactante. A pesar de que tales agentes pueden también ser importantes en la regulación de secreción de surfactante en adultos, su rol posible en el feto y recién nacido debe ser aún enfatizado.

Un rol para los  $\beta$  agonistas en la producción de surfactante fue sugerido por los descubrimientos clínicos de que la terbutalina <sup>(1)</sup> disminuye la incidencia de SDR. Los  $\beta$  agonistas fueron también reportados que estimulan la producción de surfactante en animales por varios criterios. El efecto estimulador fué bloqueado por el  $\beta$  agonista propanolol <sup>(1)</sup>. Los  $\beta$

receptores han sido reportados en pulmón fetal (44) y en células tipo II fetales (1) y hay aumento en el desarrollo en tales receptores en el pulmón fetal y de RN (44,45). Aún más, ambos, los glucocorticoides (44) y la hormona tiroidea (45) aumentan el número de  $\beta$  receptores en el pulmón fetal. Hay evidencia de que los  $\beta$  agonistas juegan un rol fisiológico en la producción de surfactante. El T de P estimula la secreción de surfactante en rebanadas de pulmón de conejo RN y este efecto fué minimizado por incubación de las rebanadas con terbutalina y desaparecido por incubación con propranolol (1).

A causa de que los efectos  $\beta$  adrenérgicos están asociados con aumento de la actividad de adenil ciclasa y un aumento en los niveles de cAMP, no es sorprendente que cAMP hayan sido reportados que estimular la secreción de surfactante (1). Un rol fisiológico para los agonistas colinérgicos en la producción de surfactante fue sugerido por los descubrimientos de que un aumento en surfactante de pulmón lavado al nacimiento en conejos fué inhibido por atropina (46). La atropina también abole el incremento en fosfolípidos alveolares causado por ventilación en el conejo adulto (1). Estos datos sugieren que el agonista colinérgico estimula la médula adrenal para producir catecolamina, las cuales en su momento actúan directamente en el pulmón. Por otro lado, la pilocarpina estimula la secreción de surfactante en el pulmón aislado de rata adulta (1) y de rata fetal en cultivo de órganos (1). Este efecto en el pulmón perfundido sin embargo, fué bloqueado por indometacina (1) sugiriendo que el efecto fué mediado por prostaglandinas, es posible que las prostaglandinas sean producidas localmente en respuesta a pilocarpina que induce deformación de las membranas celulares en la región alveolar capilar (1). Un rol de las prostaglandinas en el control de la secreción de surfactante fué sugerido por los siguientes datos: La Prostaglandina E estimula la secreción de fosfatidilcolina en rebanadas de pulmón de conejo RN. Acido flufenámico e indometacina inhibidores de la síntesis de prostaglandina, inhibe la secreción (1), en el mismo modelo, el efecto estimulador del Trabajo de Parto en la secreción de surfactante fué abolido por indometacina (1). Hay un incremento en la síntesis de prostaglandinas por el pulmón fetal unido al final de la gestación (1).

## DIFERENCIAS DE SEXO EN MADURACION PULMONAR FETAL.

Una diferencia de sexo en la maduración fetal pulmonar y producción de surfactante ha llegado a ser recientemente sujeto de una investigación en un número de laboratorios. El ímpetu clínico para este trabajo ha sido por las observaciones ya conocidas de que los hombres son más propensos al SDR que las mujeres de la misma edad gestacional<sup>(1)</sup>. Los descubrimientos clínicos fueron confirmados cuando los fosfolípidos en el líquido amniótico (LA) fueron analizados. Torday y col. reportaron una pequeña pero significativa diferencia entre líquido amniótico de machos y hembras en la concentración de fosfatidilcolina disaturada y promedio de Lecitina/Esfingomielina. Con este criterio, las mujeres maduran poco más o menos una semana antes que los hombres. Además en estudios clínicos recientes en los cuales la eficacia de los glucocorticoides en prevenir SDR fue medida, se encontró que la hormona fué mucho más efectiva en hembras que en machos<sup>(27,47)</sup>. En un estudio multicéntrico se concluyó que la dexametasona fué sólo efectiva en hembras. La causa de las diferencias en el lavado pulmonar y en líquido amniótico por el sexo, cuando menos en el conejo, es posible sean debidas a diferencias en la secreción. En este contexto el estudio de Padbury y asociados<sup>(1)</sup> es interesante. Ellos reportaron más receptores  $\beta$  adrenérgicos en pulmones femeninos de conejo fetal que en pulmones machos de la misma edad gestacional. Y a causa de que los  $\beta$  agonistas estimulan la secreción de surfactante, esto puede contar para la ventaja de las hembras en la producción de surfactante. Las diferencias en sexo en la maduración pulmonar pueden ser debidas a diferencias en los niveles hormonales sexuales.

Los estrógenos estimulan la producción de surfactante en el conejo fetal y rata. Sin embargo, hay diferencias en cuanto a sexo en el efecto de los estrógenos en la síntesis de fosfatidilcolina y disminución de glucógeno en pulmones fetales de conejo<sup>(1)</sup>. Los estrógenos aumentan la cantidad de fosfolípidos de surfactante en lavado pulmonar de conejo fetal<sup>(48)</sup> pero no es conocido si este efecto es dependiente del sexo. Ha sido reportado que la desventaja en los machos en la producción de surfactante es debida a una inhibición por andrógenos<sup>(1)</sup>. La dihidroxitesterona que elimina la diferencia por sexo en el lavado pulmonar muestra un decremento de fosfatidilcolina disaturada/esfingomielina en las hembras en comparación al nivel de los machos. Similarmente un antiandrógeno aumenta el nivel masculino.<sup>(48)</sup>

## LA INFLUENCIA DEL TRABAJO DE PARTO EN LA PRODUCCION DE SURFACTANTE.

Hay un aumento de 8 veces en la cantidad de fosfatidilcolina en pulmón lavado durante las primeras 24 horas después del nacimiento de conejos fetales a término por operación cesárea. Observándose un aumento significativo cuando los animales son paridos después de un Trabajo de Parto (T de P) inducido con oxitocina <sup>(1)</sup>. Este efecto estimulador parece ser la causa de un aumento en la secreción de surfactante, como se demuestra por el aumento en el promedio de la secreción de fosfatidilcolina en placas de pulmón de conejo recién nacido. La oxitocina en ausencia de T de P no tiene efecto en la secreción. Pero un efecto estimulador del T de P en la síntesis de surfactante es sin embargo, poco probable <sup>(1)</sup>. El promedio Lecitina/Esfingomielina (L/E) en líquido amniótico humano ha sido reportado que aumenta durante el T de P <sup>(1)</sup>. Por lo que el Trabajo de Parto puede ser un factor importante en el desarrollo del sistema surfactante y en la prevención de SDR.

## II. JUSTIFICACION.

La estabilidad de los alveolos pulmonares en el neonato depende del surfactante pulmonar que reviste los espacios alveolares, que cuando está deficiente se manifiesta clínicamente como Síndrome de Dificultad Respiratoria (SDR), expresión clínica de la inmadurez bioquímica del pulmón. (67)

En el embarazo normal el sistema surfactante madura aproximadamente a las 36 semanas de gestación; para la gestación anormal esta cronología puede estar acelerada o retrasada, de ahí que sea motivo de interés encontrar un método confiable para determinar con exactitud la madurez pulmonar fetal así como los cambios fisicoquímicos que la provocan, a fin de tomar decisiones de manejo clínico que ofrezcan mayor seguridad tanto al feto como a la madre, ya que la prematuridad está directamente relacionada con el aumento de morbilidad del recién nacido y la mortalidad neonatal.

Se ha demostrado que el grado de maduración pulmonar está directamente relacionado con la cantidad y calidad de los fosfolípidos pulmonares fetales (surfactante pulmonar) y en la actualidad se cuenta con varios métodos y técnicas de laboratorio que permiten conocer estos datos, desconociándose hasta la fecha su interacción.

Uno de los métodos más usados es la determinación de la Lecitina/Esfingomielina (L/E) en líquido amniótico (LA). En los embarazos normales no hay riesgo de padecer SDR, si el líquido amniótico muestra grandes concentraciones de lecitina, lo cual ha sido demostrado por varios autores que señalan que valores superiores a 2 en la relación L/E indican madurez fetal, (55) sin embargo, estudios posteriores demostraron que el valor pronóstico de la relación L/E cuando es menor de 2.8 sigue siendo dudoso y sólo valores superiores a esta cifra indican una alta probabilidad de madurez pulmonar fetal y bajo riesgo de desarrollar SDR.

Sin embargo, es necesario practicar otros análisis en los casos que se encuentran por debajo de dichos límites para establecer con mayor precisión los casos con verdadero alto riesgo de desarrollar SDR. Con este propósito se sugiere identificar: fosfatidilglicerol (Pg), fosfatidilinositol (Pi), y otras fracciones de fosfolípidos a fin de obtener un perfil de madurez fetal completo. (54)

Un gran número de investigaciones están de acuerdo en que la presencia de Pg en LA es indicativo de madurez pulmonar. Kogan y col. reportaron que el promedio de L/E no parece dar información adicional al método de determinación de Pg por lo que el promedio de L/E lo descontinuaron desde el año de 1980 dando soporte a la conclusión de que la presencia de Pg en la fracción de surfactante aislado predice ausencia de SDR y que no existe ninguna prueba que pueda predecir absolutamente el SDR, ya que esta puede desarrollarse en fetos maduros por varias razones, en particular asfíxia neonatal y acidosis.

No hay duda del beneficio que ha representado el resultado positivo de estas pruebas en el manejo del paciente de alto riesgo, sin embargo, cuando los resultados son negativos, correspondientes a patrones de inmadurez pulmonar, el criterio expectante es saludable cuando no existe urgencia en la interrupción del embarazo, en cambio, al existir condiciones que sugieren la necesidad de interrupción, es crítico y motiva que algunos utilicen inductores de madurez pulmonar como es el caso de los glucocorticoides, evitando así la aparición del SDR.

A causa de que los glucocorticoides no son completamente efectivos en la prevención del SDR en niños, hay un interés actual en el uso de una combinación de hormona tiroidea y glucocorticoides con este propósito. (1)

Por lo que ha sido necesario validar el pronóstico de las pruebas en general, demostrándose así un elevado porcentaje de resultados negativos y falsos positivos: la incidencia de esta última es de 1.5% en mujeres embarazadas normales y de 3.9% en madres diabéticas (68), lo que hace necesario la búsqueda de indicadores más finos de madurez fetal. Es notorio el número de falsos negativos y positivos que con la determinación de L/E han sido reportados, oscilando entre el 8 al 87% y 0 a 7% respectivamente. (54)

Lo anterior sugiere la necesidad de utilizar un perfil de estudios en LA a fin de reducir el factor de error diagnóstico y pronóstico en los casos calificados con inmadurez pulmonar fetal por estas pruebas.

Por lo que el objetivo de nuestra investigación está encaminada a reconocer los mecanismos de interacción hormonal que intervienen en la regulación fisiológica y el papel del sustrato en el control de la maduración pulmonar.

La cuantificación de los valores normales de estas hormonas en distintas etapas del embarazo y su comparación con la concentración de surfactante pulmonar, permitirá identificar la participación del cortisol, insulina, prolactina y hormonas tiroideas en la maduración pulmonar y consecuentemente en la producción de surfactante pulmonar, lo que conducirá a complementar el diagnóstico prenatal de madurez pulmonar.

### III. OBJETIVOS

- 1.-Conocer los niveles de cortisol, insulina, prolactina, tirotrópina y hormonas tiroideas, (T<sub>3</sub>-T<sub>3</sub>-T<sub>4</sub>) en sangre materna y su relación con la concentración de surfactante pulmonar en líquido amniótico durante el tercer trimestre de gestación en el embarazo normal.
- 2.-Conocer los niveles de cortisol, insulina, prolactina, tirotrópina y hormonas tiroideas (T<sub>3</sub>-T<sub>3</sub>-T<sub>4</sub>) en sangre arterial de cordón umbilical de recién nacido, sangre materna y líquido amniótico y su relación con la concentración de surfactante pulmonar en líquido amniótico durante el trabajo de parto espontáneo en embarazos normales de término.

#### **IV. HIPOTESIS PLANTEADA.**

Los cambios hormonales individuales o en interacción de cortisol, prolactina, tirotropina, T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>3r</sub>, en sangre venosa materna y/o en sangre arterial de cordón umbilical del recién nacido y/o líquido amniótico, son indicadores precisos de los cambios hormonales, funcionales y bioquímicos del pulmón fetal, expresados éstos a través de las concentraciones totales o parciales del surfactante pulmonar en líquido amniótico durante el tercer trimestre de la gestación en el curso del embarazo y Trabajo de Parto normal.

## V. METODO.

Se seleccionaron al azar 60 pacientes embarazadas de la población asistente a la consulta externa del Instituto Nacional de Perinatología durante el período comprendido de Enero a Diciembre de 1984 con los siguientes criterios de inclusión :

- Ausencia de antecedentes patológicos de importancia.
- Edad entre los 20 y 30 años.
- Talla mayor de 150 cms.
- Peso adecuado a la talla.
- De 1 a 4 embarazos previos.
- Fecha de última menstruación conocida (normoreglada),.
- Presión arterial entre 100/60 y 130/85 mm Hg.
- Ausencia de edemas.
- Biometría hemática, química sanguínea, general de orina, , VDRL, dentro de límites normales.
- Evaluación Ultrasonográfica:
  - Edad gestacional.- acorde con amenorrea  $\pm$  10 días.
  - Ausencia de malformación congénita.
  - Ausencia de patología corioamniótica.
  - Localización placentaria fúndica o segmento corporal posterior.
- Inicio de control prenatal antes de las semanas 28 de la gestación.
- Carta de consentimiento informado.

## VI. PROCEDIMIENTO.

La muestra (N=60) se clasificó en tres grupos en base al tiempo de maduración bioquímica del pulmón (34 semanas), madurez fetal (37 semanas) y nacimiento (inicio de la respiración extrauterina, -37 a 41 semanas), mostrando la siguiente distribución:

GRUPO	MUESTRA CALCULADA	SEMANAS	MUESTRA PROCESADA
I	20	34	17
II	20	37	19
III	20	T de P	14
TOTAL	60		50

- Las causas por las que no se completó la muestra fueron:

A las 34 semanas : Muestra insuficiente de LA: un caso.  
Infección de vías urinarias: un caso.

A las 37 semanas : Presencia de LA meconial: un caso.

En el T de P : LA con secreciones vaginales: 2 casos.  
Ruptura prematura de membranas: 3 casos.  
Muestra insuficiente de LA : 1 caso.

En el grupo de 34 s (N=17/20) y 37 s (N=19/20) la indicación de la amniocentesis fué la determinación de madurez fetal en pacientes con el antecedente pregestacional de cirugía ginecológica o cesárea iterativa, las cuales serían sometidas a interrupción del embarazo por vía abdominal, al término de la Gestación ( 37-38 semanas ).

Se citó a las pacientes en seis ocasiones, en donde se realizó, a partir de la semana 28 de la gestación, la evaluación clínica del estado materno fetal y localización del sitio de inserción placentaria por ultrasonografía, como se muestra a continuación:

PROCEDIMIENTO	SEMANAS DE GESTACION					
	28	34	36	37	39	T de P
Historia Clínica	X					
BH-QS-EGO-VDRL	X			X		
Ultrasonografía	X		X			
Muestra de sangre materna		X <sup>1</sup>		X <sup>2</sup>		X <sup>2</sup>
Muestra de líquido amniótico		X <sup>1</sup>		X <sup>2</sup>		X <sup>3</sup>
Muestra de sangre de cordón						X
Cardiotocografía fetal	X	X	X	X	X	X
Evaluación integral del Estado Materno fetal	X	X	X	X	X	X
(X <sup>1</sup> ) Grupo I N=17	(X <sup>2</sup> ) Grupo II N=19	(X <sup>3</sup> ) Grupo III N=14				

Las muestras de sangre materna a las 34 y 37 s. de gestación se tomaron:

- En ayuno, 10 ml. de sangre venosa ( entre las 8 y 9:30 a.m.).
- Al tiempo de la amniocentesis.
- Se centrifugaron a 3000 RPM para obtención de suero.
- Se congelaron a -20° C para la realización de radioinmunoanálisis

Las muestras de líquido amniótico durante el embarazo (34 y 37 s) se tomaron:

- Al mismo tiempo que las tomas de sangre (en ayunas).
- Por amniocentesis transabdominal.
- Bajo técnica estéril.
- Con botón anestésico local, con xilocaína al 1% 2 cc.
- Y monitorización cardiotocográfica continua.
  - 60 minutos previa amniocentesis.
  - 60 minutos post-amniocentesis.
- Se obtuvieron 20 ml. de líquido amniótico ( no meconial, no hemático)
- 10 ml. para determinación de fosfolípidos, que se procesaron inmediatamente en cromatografía de capa fina bidimensional.

- 10 ml. se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  para radioinmunoensayo.

Las muestras en el trabajo de parto se tomaron:

- En el embarazo a término (37 a 41 semanas).
- Al final del primer período del trabajo de parto espontáneo.
- Sangre materna 10 ml. centrifugada inmediatamente para obtención de suero y congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  para radioinmunoensayo.
- 20 ml. de líquido amniótico claro. (no meconial, no hemático, no vaginal)
  - 10 ml. para determinación de fosfolípidos que se procesaron inmediatamente en cromatografía de capa fina bidimensional.
  - 10 ml. se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  para radioinmunoensayo.

Se obtuvieron :

- Por amniocentesis transvaginal y transcervical.
- Bajo técnica estéril.
- Con membrana amniótica íntegra.
- Y monitorización cardiotocográfica continua hasta el nacimiento.

La muestra al nacimiento se tomó de cordón umbilical en su extremo placentario.

- 10 ml. de sangre arterial.
- Centrifugada a 3000 RPM para obtención de suero.
- Congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$  para radioinmunoensayo.

Los criterios de inclusión de la muestra al nacimiento fueron:

- Neonato sano.
- Sin malformaciones congénitas.

#### **DETERMINACION DE SURFACTANTE PULMONAR. EXTRACCION DE FOSFOLIPIDOS.**

La determinación del perfil de lípidos pulmonares se llevó a cabo en cromatografía de capa fina bidimensional en placas de acrílico inmediatamente a la obtención de la muestra.

La extracción de los fosfolípidos se realizó con líquido amniótico centrifugado a 3000 RPM por 5 minutos para separar fibras y células. Del sobrenadante decantado se tomaron 5 ml, a los que se agregaron 5 ml de metanol y 10 ml de cloroformo, se agitó la mezcla por 10 minutos en agitador magnético a temperatura ambiente, se sometió a baño de hielo por 5 minutos, se centrifugó 10 minutos a 2500 RPM, con esto se separaron tres capas claramente, la superior (acuosa), la interfase (proteínas), y la inferior (clorofórmica), la cual contenía los fosfolípidos extraídos. Separamos la fase clorofórmica con pipeta Pasteur en un vaso de precipitado de 30 ml, se evapora a sequedad en baño María a una temperatura de 56 grados centígrados aproximadamente. Se resuspendió con 3 lavados de un ml cada uno de cloroformo y se trasladó a un tubo de centrifuga cónico de 3 ml con tapón esmerilado, se evaporó nuevamente a sequedad en baño María, se enfrió en baño de hielo por 5 minutos, se agregaron .2 ml de acetona fría, se agitó a fin de precipitar los lípidos pulmonares volviendo a agregar .5 ml de acetona fría, colocándolos nuevamente en baño de hielo por 5 minutos más. Se centrifugó por 2 minutos a 2500 RPM, se separó el sobrenadante a otro tubo de centrifuga cónico de 3 ml con tapón esmerilado, el cual contenía los lípidos extrapulmonares (Lecitina soluble). Se secaron los tubos con aire y se resuspendieron en 50  $\mu$ l de cloroformo. A partir de esto se aplicaron 10 a 15  $\mu$ l sobre la placa según se muestra en el diagrama # 1 (Pág.50 ).

#### PREPARACION DEL ESTANDAR

Los preparados comerciales de fosfatidilglicerol y esfingomielina contenían 100 mg por frasco , que se diluyeron en 5 ml de cloroformo, tomándose 5  $\mu$ l que contenían 100  $\mu$ g para aplicación de la muestra.

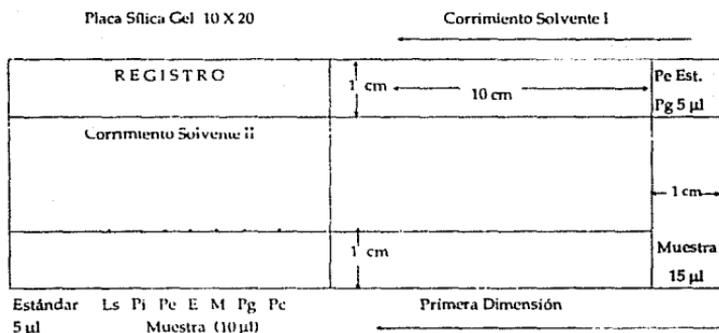
Los preparados comerciales de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina contenían 250 mg por frasco que se diluyeron en 5 ml de cloroformo, tomándose 2  $\mu$ l que contenían 100  $\mu$ g para aplicación de la muestra.

El preparado comercial de Inositol contiene 50 mg. por frasco, los cuales se diluyeron en 5 ml de cloroformo, tomándose 10  $\mu$ l que contenían 100  $\mu$ g para aplicación de la muestra.

## DETERMINACION POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA BIDIMENSIONAL.

Se usaron cromatofolios PL de sílica gel 60 F 254 para cromatografía en capa fina de 20 x 10 cm con un espesor de capa 0.2 mm marca Merck, se secaron por 5 minutos a 60° C. en estufa a fin de eliminar humedad que pudieran contener, se enfriaron a temperatura ambiente, usándose inmediatamente. Se marcó con lápiz la placa y se procedió a colocar a los lípidos pulmonares extraídos y los estándar de fosfolípidos 15 y 10 µl según se muestra en el diagrama, se cubrió la placa en el solvente desarrollador a fin de realizar el primer corrimiento ( Solvente I : cloroformo 32.5 ml, metanol 15 ml, hidróxido de amonio 1.25 ml y agua 2 ml). Se dejó correr el cromatograma hasta el borde, posteriormente se seca evaporándose el exceso bajo campana y colocándose en estufa a 70° por 8 minutos. Se introdujo al segundo corrimiento (Solvente II con cloroformo 40 ml, metanol 12.5 ml, ácido acético 3 ml, y agua 1.5 ml), se dejó correr nuevamente en la segunda dirección hasta el borde en la cámara de corrimiento. Se sometió la placa nuevamente a calor seco durante 8 minutos a 70° C, se procedió al revelado al someter la placa a inmersión con azul de bromotimol y lavado con carbonato de Sodio al 15%, para posterior a su secado con calor seco realizar la lectura planimétricamente. Se calcularon los porcentajes de los diferentes fosfolípidos, al medir el área total por reflectancia densitométrica de los compuestos con un rango visible ultravioleta con longitud de onda 540, con cabezal de medidas densitométricas por reflectancia marca Carl Zeuss PMQ2. Medimos el área bajo la curva de cada uno de los fosfolípidos: fosfatidilcolina (lecitina precipitable), fosfatidilglicerol, fosfatidilinositol y fosfatidiletanolamina, contenidas en la muestra problema, del área de corrimiento bidimensional (solvente I y II). De la suma total se determinó el 100% de los fosfolípidos, obteniéndose así los porcentajes individuales. En el área de corrimiento unidireccional (solvente II) se midió el área bajo la curva de la lecitina precipitable y de la esfingomielina a fin de obtener el índice L/E. Se determinó la cromatografía de la lecitina soluble a fin de evitar errores en la lectura (Fotografía # 1).

DIAGRAMA # 1 RAYADO Y APLICACION DE MUESTRA EN PLACA.



Concentración y Estandar de fosfolípidos aplicados en la placa de Cromatografía en capa fina.

Ls= Lecitina soluble	100 µg/µl	5 µl
Pi= Fosfatidilinositol	100 µg/µl	10 µl
Pe= Fosfatidiletanolamina	100 µg/µl	2 µl
E = Esfingomielina	50 µg/µl	2.5 µl
M = Muestra problema	50 µl	10 µl/15µl
Pg= Fosfatidilglicerol	100 µg/µl	5 µl
Pc= Fosfatidilcolina	100 µg/µl	2 µl

#### RADIOINMUNOENSAYO.

El total de las muestras congeladas (suero de sangre venosa materna, arterial de cordón umbilical y líquido amniótico) a -20°C, se descongelaron y procesaron por radioinmunoensayo en un solo tiempo para la determinación de hormonales, cortisol, insulina, prolactina, tirotrópina y hormonas tiroideas con estuches comerciales, (Amerlex RIA Kit) relizándo-

se el corrimiento por duplicado con una variación intraensayo y extraensayo menor del 10%.

Rango Total del Radioinmunoensayo :

Cortisol total AM	0 a 250 ng/ml
Insulina	0 a 100 $\mu$ u/ml
Prolactina	0 a 200 ng/ml
Tirotropina ( TSH )	0 a 50 $\mu$ u/ml
Troxina total ( T <sub>4</sub> )	0 a 25 $\mu$ g/100 ml
Triyodotironina total ( T <sub>3</sub> )	0 a 220 ng/ml
Triyodotironina reversa (T <sub>3r</sub> )	0 a 220 ng/ml

#### **RADIOINMUNOENSAYO DE CORTISOL TOTAL.**

Preparación del reactivo Estandar.

Los estandar de cortisol RIA Kit, se prepararon: 1 ml de estandar con 25 ml de Metanol, obteniéndose 2  $\mu$ g/ml (dilución 1:1500), de ésta se tomó 1 ml que se diluyó en 100 ml de metanol a fin de obtener 20 ng/ml (20000 pg/ml). Preparándose los estandar a 2000-1000-500-250-125-62.5 pg/ml los cuales se diluyeron con volúmenes de 100 $\mu$ l de metanol, se evaporaron a temperatura ambiente en 24 horas, resuspendiéndose con metanol al 10% 100  $\mu$ l y buffer de boratos 100  $\mu$ L.

Preparación del anticuerpo en suspensión Amerlex y Cortisol tritidado.

Estaban listas para usarse, se equilibraron a temperatura ambiente y antes de usarse en el ensayo se agitaron gentilmente para formar una suspensión homogénea.

Sensibilidad de 0 a 250 ng/ml

Especificidad: Porcentaje de reacción cruzada del suero-anticortisol.

Horona	% de Reacción cruzada
Cortisol	100
Prednisona	35
11-Desoxicortisol	1.8
17 $\alpha$ -Hidroxiprogesterona	1.7
Cortisona	1.6
Dexametasona	-0.1

Por peso a 50% de la unión del suero estandar.

Preparación del Buffer de Boratos.

Se mezclaron 4 g de ácido bórico en 500 ml de agua destilada (PH 8), y quedó listo para usarse.

Preparación de Solución de Centelleo.

Se mezclaron con 4 g/l de 2-5 difenil oxazol Merk (PPO), con 100 mg/l de 2-20 fenil oxazol Merk (POP OP), los cuales se diluyeron en 1 l de tolueno, quedando listo para usarse.

Procedimiento de ensayo.

- Las muestras se determinaron por duplicado.
- Se realizó una curva estandar para cada ensayo ( Ver Tabla 6).
- Se marcaron los tubos de ensayo de los estandar ( Ver Tabla 6).

TABLA #6										
ESTANDAR								SUERO PROBLEMA		
Control	100%	0	50	100	250	500	1000	2000		
Tubo Numero	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20
Suero Estándar	-	200	200	200	200	200	200	200		
Suero Problema	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100
Cortisol Tritiado	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Suero Anticuerpo	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Incubaron 12 horas a temperatura ambiente										
Sulfato de Amonio	-	300	300	300	300	300	300	300	300	300
Centrifugar por 10 minutos a 3000 RPM Decantar los Viales										
Sol. de Centelleo (ml)	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Incubaron por dos horas a temperatura ambiente										
Todos los volúmenes son en µl										

Se mezclaron los estandar ya resuspendidos o el suero problema como se muestra en la Tabla 6, con 100 µl de solución de cortisol tritiado, se incubaron por 12 horas a temperatura ambiente, se agregó Sulfato de Amonio saturado 300 µl, se centrifugó la mezcla por 10 minutos a 3000 RPM, se decantó su contenido en viales, se agregó solución de centelleo 5 ml y se dejó incubar por 2 horas a temperatura ambiente, para posteriormente somerlelo a conteo beta por un minuto, tiempo mínimo requerido para acumular 50000 cuentas en los tubos de ensayo de suero estandar, tubos 3 y 4.

Para la interpretación de los resultados se determinó el promedio de cuentas de cada set de tubos de ensayo, obteniendo así el promedio de cuentas del blanco (Bo) tubos 1 y 2, el que se dividió entre el promedio neto de las muestras estandar y suero problema (B), el producto se multiplicó por 100 a fin de obtener el porcentaje Bo para cada muestra (% B/Bo)

$$\frac{B}{B_0} \times 100 = \% \frac{B}{B_0}$$

Se graficó % B/B<sub>0</sub> de cada una de las concentraciones estándar en µg/ml en papel semilogarítmico, así las concentraciones de la hormona en los sueros problema fueron leídas directamente de esta curva estándar.

#### RADIOINMUNOENSAYO DE INSULINA.

Preparación del Reactivo Estándar.

Se mezclaron 2300 µU del estándar de Insulina humana más 2.3 ml de buffer de fosfato quedando una solución de 1000 µU/ml, se tomaron 400 µU que se mezclaron con 2 ml de buffer. Preparando así los estándares a 80-40-20-10-0 µU/ml agregando el buffer a los tubos de ensayo de acuerdo a la tabla # 7, tratando siempre de mantener un volumen de 160 µU/ml por estándar los cuales se agitaron cuidadosamente.

TABLA # 7

Conc. de Insulina	0	10	20	40	80	160
Buffer	1000	1500	700	600	500	-
Estándar con 160 µU/ml	-	100	100	200	500	1000
Todos los volúmenes son en µl						

Preparación del Anticuerpo en suspensión Amerlex Insulina.

Se reconstituyó el contenido del frasco con 8 ml de agua destilada, quedando listo para usarse.

Preparación del Buffer.

Se disolvió el contenido del frasco con 100 ml de agua destilada, quedando listo para usarse.

Preparación de la Insulina I <sup>125</sup>.

Se mezcló 1 ml del frasco de Insulina I <sup>125</sup> con 7 ml del buffer, quedando listo para usarse.

Sensibilidad de 0 a 160 µU/ml

Especificidad: Porcentaje de reacción cruzada del suero anti-insulina.

Hormona	% de Reacción cruzada
Insulina humana	102
Péptido C	<0.4
Glucagon	<0.4

Expresado por el promedio de la cantidad de insulina requerida para desplazar el 50% de insulina.

Procedimiento de ensayo.

- Las muestras de suero se determinaron por duplicado.
- Se realizó una curva estandar para cada ensayo ( Ver Tabla 8).
- Se marcaron los tubos de ensayo de los estandar ( Ver Tabla 8).

Tabla # 8

	ESTANDAR $\mu\text{l/ml}$								BLANCO SUERO PROBLEMA		
	100%	0	10	20	40	80	160				
Tubo Número	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20	
Buffer	-	100	-	-	-	-	-	200	-	-	
Estándar de Insulina	-	-	100	100	100	100	100	-	-	-	
Suero Problema	-	-	-	-	-	-	-	-	100	100	
Reactivo de Unión	-	100	100	100	100	100	100	-	100	100	
Congelación por 45 minutos a $-4^{\circ}\text{C}$											
Insulina I <sup>125</sup>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	
Congelación por 135 minutos a $-4^{\circ}\text{C}$											
Buffer	-	700	700	700	700	700	700	700	700	700	
Centrifugar y decantar											
Todos los volúmenes son en $\mu\text{l}$											

Se mezclaron 100  $\mu\text{l}$  de buffer, insulina estandar o suero problema como se muestra en la tabla 8; con 100  $\mu\text{l}$  del reactivo de anticuerpo de insulina y se incubaron a  $-4^{\circ}\text{C}$  durante 45 minutos. Posteriormente se mezclan con 100  $\mu\text{l}$  de la solución de Insulina I<sup>125</sup> y se incubaron a  $-4^{\circ}\text{C}$  du-

rante 135 minutos, al término se le agregó 700 µl de buffer (excepto a los totales), a fin de lavar las paredes de los tubos. Se centrifugó a 1500 RPM por 25 minutos a temperatura ambiente, se decantó su contenido sobre papel absorbente durante 15 minutos y posteriormente se sometió a conteo gamma por un minuto, requerido para acumular 10000 cuentas en los tubos 15 y 16.

Para la interpretación de los resultados se determinó el promedio de cuentas de cada set de tubos de ensayo, obteniendo así, el promedio de cuentas del blanco (Bo) tubos 1 y 2, se dividió entre el promedio neto de las muestras estándar y suero problema (B), el producto se multiplicó por 100 a fin de obtener el porcentaje Bo para cada muestra.. (% B/Bo)

$$\frac{B}{Bo} \times 100 = \% \frac{B}{Bo}$$

Se graficó % B/Bo de cada una de las concentraciones estándar en µU/ml en papel semilogarítmico, así las concentraciones de la hormona en los sueros problema fueron leídas directamente de esta curva estándar.

#### **RADIOINMUNOENSAYO DE PROLACTINA RIA Kit.**

Preparación del Reactivo Estándar.

Los estándar de Prolactina Amerlex estaban listos para usarse en concentraciones de 0-5-15-50-100-200 µg/ml, se les agregó 1 ml de agua destilada, se dejó reposar por 5 minutos a temperatura ambiente, se mezcló agitando suavemente hasta obtener una solución completa.

Preparación del antisero en suspensión Amerlex y Prolactina I<sup>125</sup>.

Reconstituidos con 5 ml de agua destilada cada uno, su contenido se disolvió rápidamente quedando listo para usarse.

Preparación del segundo anticuerpo.

El anticuerpo estaba listo para usarse, se equilibró a temperatura ambiente, se agitó suavemente para mezclarlo formando así una suspensión homogénea.

Sensibilidad de 0 a 200 ng/ml

Especificidad: Porcentaje de reacción cruzada del anti-suero prolactina.

Hormona	% de Reacción cruzada
Prolactina	100
H. Gonadotropina	0.2

Por peso a 50% de la unión del suero estandar.

Procedimiento de ensayo.

- Las muestras de suero se determinaron por duplicado.
- Se realizó una curva estandar para cada ensayo ( Ver Tabla 9).
- Se marcaron los tubos de ensayo de los estandar ( Ver Tabla 9).

TABLA # 9

	ESTANDAR (µg/ml)							SUERO PROBLEMA		
	100%	0	7.5	15	50	100	200	BLANCO	1	2
Tubo Número		1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
Suero Estándar		100	100	100	100	100	100	-	-	-
Suero Problema		-	-	-	-	-	-	100	100	100
Prolactina I <sup>125</sup>	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Suero antiprolactina		100	100	100	100	100	100	100	100	100
Se incubó 24 horas a temperatura ambiente										
Segundo anticuerpo		1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Se incubó 5 min. a Temperatura ambiente y se centrifugó X 15 min. a 1500 RPM										
Todos los volúmenes son en µl										

Se mezclaron en los tubos 100 µl de los estandar o suero problema con 100 µl de solución de Prolactina I<sup>125</sup> y 100 µl de solución suero antiprolactina, se mezclaron por vortex cuidadosamente, cubriéndolos se incubaron

a temperatura ambiente por 24 horas, se agregó 1 ml del segundo anticuerpo en todos los tubos, se mezclaron y se dejaron por 5 minutos a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugaron por 15 minutos a 1500 RPM, se decantó su contenido, se invirtieron los tubos sobre papel absorbente durante 10 minutos, se limpiaron los cantos con el mismo papel a fin de evitar la adhesión de partículas de líquido, se sometieron a conteo gamma por un tiempo de un minuto, requerido para acumular 10000 cuentas en los tubos 13 y 14.

Para la interpretación de los resultados se determinó el promedio de cuentas de cada set de tubos de ensayo, obteniéndose así el promedio de cuentas del blanco (Bo) tubos 1 y 2, el que se dividió entre el promedio neto de las muestras estándar y suero problema (B), el producto se multiplica por 100 a fin de obtener el porcentaje B/Bo para cada muestra (% B/Bo).

$$\frac{B}{Bo} \times 100 = \% \frac{B}{Bo}$$

Se graficó % B/Bo de cada una de las concentraciones Estándar en mg/ml en papel semilogarítmico, así las concentraciones de la hormona en los sueros problema fueron leídas directamente de esta curva estándar.

#### **RADIOINUMNOENSAYO DE TIROTROPINA (TSH RIA Kit).**

Preparación del Reactivo Estándar.

Los estándar TSH RIA Kit estaban listos para usarse en concentraciones de 0-0.8-2.5-5-10-25-50  $\mu$ U/ml, se les agregó 2 ml de agua destilada, se mezclaron agitándolos suavemente, hasta obtener una solución completa dejándolos reposar por 10 minutos a temperatura ambiente.

Preparación de los anticuerpos en suspensión Anti TSH Amerlex M-TSH-125 y reactivos NSB.

Estaban listos para usarse, se equilibraron a temperatura ambiente y se agitaron suavemente a fin de formar una suspensión homogénea antes de usarse.

Sensibilidad de 0 a 50  $\mu$ U/ml

Especificidad: Porcentaje de reacción cruzada del suero anti-TSH

Hormona	% de reacción cruzada
TSH	100
FSH	0.12
LH	0.22
HCG	<0.01

Por peso a 50% de unión del suero estandar.

Procedimiento de ensayo.

- Las muestras se determinaron por duplicado.
- Se realizó una curva estandar por cada ensayo (Ver Tabla # 10).
- Se marcaron los tubos de ensayo de los estandar. (Ver Tabla # 10).

TABLA # 10

	ESTANDAR								SUERO PROBLEMA	
	NSB	0	0.8	25	5	10	25	50	1	2
Tubo Número	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20
Suero Estándar	200	200	200	200	200	200	200	200	-	-
Suero Problema	-	-	-	-	-	-	-	-	200	200
S. Anti TSH	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Reactivo NSB	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Se incubaron 90 minutos a 37°C										
TSH con I <sup>125</sup>	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Se incubaron 90 minutos a 37°C										
Segundo Anticuerpo	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000
Se incubaron 10 minutos a temperatura ambiente										
Todos los volúmenes son en µl										

Se mezclaron en los tubos 200 µl de los estandar o suero problema con 100 µl de suero anti TSH o reactivo NSB, se mezclaron por agitación todos los tubos cuidadosamente y se incubaron en baño de agua a 37°C durante 90 minutos, se agregaron 100 µl de solución de hormona TSH con I<sup>125</sup>, se mezclaron cuidadosamente y se incubaron en baño de agua a

37°C durante 90 minutos y se agregaron 1000 µl del segundo anticuerpo Amerlex M en cada tubo, se mezcló cuidadosamente e incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos, se montó la gradilla sobre la base del separador Amerlex M asegurando su contacto durante 15 minutos, posteriormente se decantó su contenido, se invirtieron los tubos sobre papel absorbente durante 5 minutos, se limpiaron los cantos con el mismo papel a fin de evitar la adhesión de partículas de líquidos, se sometieron los tubos de ensayo a conteo gamma por un tiempo de un minuto, requerido para acumular 10000 cuentas en los tubos 3 y 4.

Para la interpretación de los resultados se determinó el promedio de cuentas para los tubos con el reactivo NSB y se restaron de todas las cuentas de patrones y muestras, se calculó la tasa de cuentas corregidas en NSB media para el patrón cero (Bo). Se dividieron las cuentas corregidas con NSB para cada patrón (B) por la tasa de cuentas corregidas media para el patrón cero (Bo) y se multiplicó por 100. (%B/Bo).

$$\frac{B}{Bo} \times 100 = \% \frac{B}{Bo}$$

Se representó los valores %B/Bo por cada patrón en función de la concentración de TSH en papel semilogarítmico y se trazó en línea recta.

Se dividió la tasa de cuentas corregidas con NSB media para cada muestra (B) por la tasa de cuentas corregidas con NSB media para el patrón cero (Bo) y se multiplicó por 100 (% B/Bo), así las concentraciones de la hormona en los sueros problema fueron leídas directamente.

#### **RADIOINMUNOENSAYO TIROXINA (T<sub>4</sub> RIA Kit)**

Preparación del Reactivo Estandar.

Los estandar T<sub>4</sub> Amerlex estaban listos para usarse en concentraciones de 0.2-5-6-12-25 g T<sub>4</sub>/100 ml, se les agregó 500 µl de agua destilada, se mezclaron agitándolas suavemente hasta obtener una solución completa dejándolo reposar por 10 minutos a temperatura ambiente.

Preparación del Anticuerpo en suspensión Amerlex y Tiroxina <sup>125</sup>I.

Estaban listos para usarse, se equilibraron a temperatura ambiente y se agitaron suavemente a fin de formar una suspensión homogénea antes de usarse.

Sensibilidad de 0 a 25 µg/100 ml

Especificidad: Porcentaje de reacción cruzada del suero anti-tiroxina.

Hormona	% de Reacción cruzada
D.Tiroxina	100
L.Triyodotironina	7.5
3'5 Diyodotironina	<0.1

Por peso a 50% de unión del suero estandar.

Procedimiento del ensayo.

- Las muestras se determinaron por duplicado.
- Se realizó una curva estandar por cada ensayo ( Ver Tabla 11 ).
- Se marcaron los tubos de ensayo de los estandar ( Ver Tabla 11 ).

TABLA # 11

	ESTANDAR (µg T <sub>4</sub> / 100 ml)					SUERO PROBLEMA		
	0	2.5	6	12	25	Control	2	3
Tubo Número	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16
Suero Estándar	25	25	25	25	25	-	-	-
Suero Problema	-	-	-	-	-	25	25	25
Tiroxina <sup>125</sup>	500	500	500	500	500	500	500	500
Anticuerpos T <sub>4</sub>	500	500	500	500	500	500	500	500
Todos los volúmenes son en µl								

Se mezclaron en los tubos 25 µl de los estandar o suero problema, con 500 µl de solución de Hormona Tiroxina <sup>125</sup> y 500 µl de suspensión de anticuerpos Amerlex T<sub>3</sub>, se mezclaron por vortex todos los tubos cuidadosamente y se mantuvieron a temperatura ambiente por 45 minutos; se centrifugaron todos los tubos por 15 minutos a 1500 RPM. Posteriormente se decantó su contenido, se invirtieron los tubos sobre papel absorbente durante 10 minutos, se limpiaron los cantos con el mismo papel a fin de evitar la adhesión de partículas de líquido, se sometieron los tubos de ensayo a conteo gamma por un minuto requerido para acumular 20000 cuentas en los tubos 1 y 2.

Para la interpretación de los resultados se determinó el promedio de conteo de cada set de tubos de ensayo, obteniéndose así, el promedio de conteo del blanco (Bo) tubos 1 y 2, se dividió entre el promedio neto de las muestras estandar v suero problema (B), el producto se multiplicó por 100 a fin de obtener el porcentaje Bo para cada muestra ( % B/Bo )

$$\frac{B}{Bo} \times 100 = \% B/Bo$$

Se graficó % B/Bo de cada una de las concentraciones estandar en µg/100 ml en papel semilogarítmico, así las concentraciones de la hormona en los sueros problema pudieron ser leídos directamente de esta curva estandar.

### RADIOINMUNOENSAYO DE TRIYODOTIRONINA. ( T<sub>3</sub> ).

Preparación del Reactivo Estandar.

Los estandar T<sub>3</sub> Amerlex estaban listos para usarse en concentraciones de 0.4-1-2-4-8 ng/T<sub>3</sub> se les agregó solamente 500 µl de agua destilada, agitándolos suavemente hasta obtener una solución completa, dejándolas reposar por 10 minutos a temperatura ambiente.

Preparación del anticuerpo en suspensión y de la Triyodo tironina <sup>125</sup>.

Ambos estaban listos para usarse, se agitaron suavemente a temperatura ambiente antes de usarse en el ensayo, a fin de equilibrarlos y formar una suspensión homogénea.

Sensibilidad de 0 a 220 ng/ml

Especificidad: Porcentaje de reacción cruzada del suero anti-triyodotironina.

Hormona	% de Reacción cruzada
3,3',5 Ac. Triyodotiroacetico	100
L.tironina	<0.3
3'5 Diyodotironina	.8

Procedimiento del ensayo.

- Las muestras de sueros se determinaron por duplicados.

- Se realizó una curva estandar por cada ensayo ( Ver Tabla 12).
- Se marcaron los tubos de ensayo de los estandar ( Ver Tabla 12).

TABLA # 12

	ESTANDAR (µg/T3/ml)							SUERO PROBLEMA	
	0	0.4	1.0	2.0	4.0	8.0	Control	1	2
Tubo Número	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18
Suero Estándar	25	25	25	25	25	25	-	-	-
Suero Problema	-	-	-	-	-	-	25	25	25
Triyodotironina <sup>125</sup>	500	500	500	500	500	500	500	500	500
Anticuerpos T3	500	500	500	500	500	500	500	500	500

Todos los volúmenes son en µl

Se mezclaron en los tubos 25 µl de los estandar o suero problema con 500 µl de solución de hormona Triyodotironina <sup>125</sup> y 500 µl de suspensión de anticuerpos Amerlex T3, se agitaron cuidadosamente, cubriéndolos se incubaron en baño de agua a 37°C por una hora. Se centrifugaron por 15 minutos a 1500 RPMV, se decantó su contenido, se invirtieron uno a uno sobre papel absorbente durante 10 minutos, se limpiaron los cantos con papel a fin de evitar la adhesión de partículas de líquido. Se sometieron los tubos de ensayo a conteo gamma por un tiempo aproximado de 2 minutos, requerido para acumular 20000 cuentas en los tubos 1 y 2.

Para la interpretación de los resultados se determinó el promedio de conteo de cada set de tubos de ensayo, el promedio de conteo del blanco (Bo) tubos y 1 2, se dividió entre el promedio neto de las muestras Standars y suero problema (B), el producto se multiplicó por 100 a fin de obtener el porcentaje Bo para cada muestra (% B/Bo).

$$\frac{B}{Bo} \times 100 = \% \frac{B}{Bo}$$

Se graficó % B/Bo de cada una de las concentraciones estandar en ng/ml en papel semilogarítmico, así las concentraciones de la hormona

en los sueros problemas fueron leídos directamente de esta curva estandar.

## VII. DISEÑO

### LONGITUDINAL, PROSPECTIVO, DESCRIPTIVO, NO EXPERIMENTAL

Variables:

Las variables (Fosfolípidos y Hormonales) se agruparon en 4 grupos de acuerdo a la edad gestacional:

GRUPO	SEMANA	VARIABLE
I	34	X <sub>1</sub>
I	37	X <sub>2</sub>
III	T de P	X <sub>3</sub>
IV	34 + 37+ T de P	X <sub>4</sub>

Variable dependiente o de predicción: Fosfolípidos pulmonares y hormonales (Y<sub>1</sub>.....21).

Variable independiente o explicativa: Edad gestacional, (X<sub>1</sub>.....4) debido a su uso en explicar la variación en Y.

En el grupo III y IV las variables se reagruparon en 3 subgrupos de acuerdo al tipo de obtención de la muestra:

	SUBGRUPOS	MUESTRA	VARIABLE
	LA	Líquido Amniótico	X <sub>5-6</sub>
Grupos III y IV	SM	Sangre Materna	X <sub>7-8</sub>
	SC	Sangre de cordón umbilical	X <sub>9-1</sub>

Estadística:

Correlación de Pearson (6) para el caso de las variables (X<sub>1</sub>.....4) semana de gestación contra las variables fosfolípidos pulmonares y hormonales (Y<sub>1</sub>.....21) tomando como nivel de significancia =0.050. Y el coeficiente de correlación de Spearman para las variables (X<sub>5</sub>.....10) subgrupos líquido amniótico, sangre materna, sangre fetal contra las variables surfactante

pulmonar y hormonales ( $Y_1, \dots, Y_2$ ) con un nivel de significancia similar utilizando la tabla G.L. Glasser y R.F. Winter<sup>(89)</sup> a fin de conocer la:

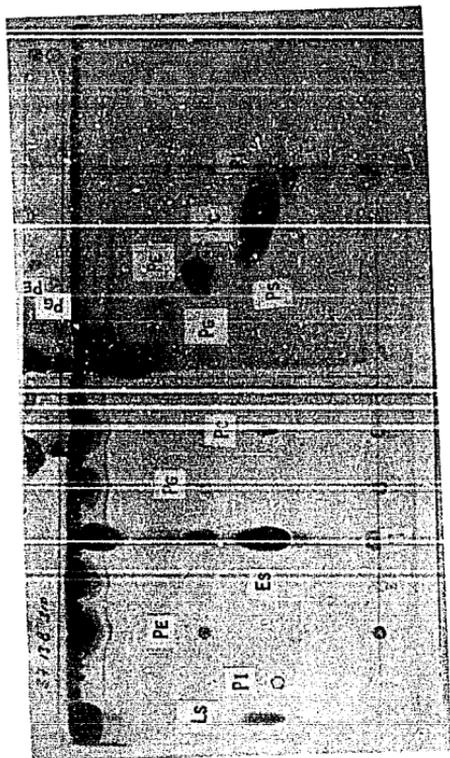
$H_0$  : X y Y son mutuamente independientes.

- 1)  $H_A$  : X y Y no son mutuamente independientes.
- 2)  $H_A$  : Existe una tendencia de que se parezcan los valores grandes de X y los valores grandes de Y.
- 3)  $H_A$  : Existe una tendencia de que los valores grandes de X se parezcan con los valores pequeños de Y.

## VIII. RESULTADOS

HORMONALES Y SURFACTANTES PULMONARES

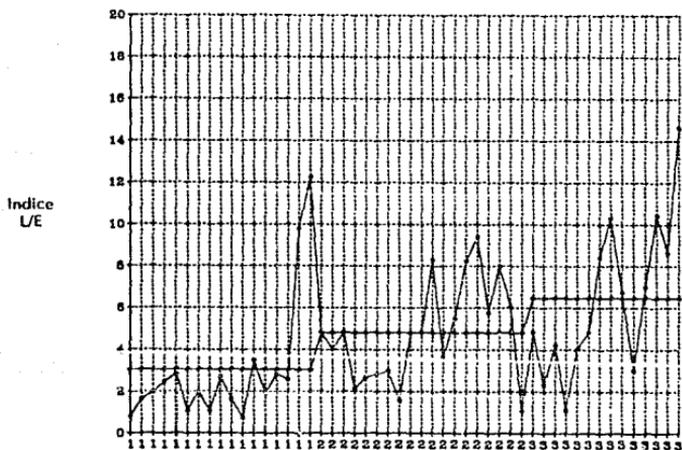
FOTOGRAFIA #1: CROMATOGRAFIA BIDIMENSIONAL EN PLACA DE SILICA  
GEL Y DETERMINACION DE FOSFOLIPIDOS PULMONARES



## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico.
  - 1.1. Índice de Lecitina-Esfingomielina (L/E) contenido en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.

### Índice Lecitina/Esfingomielina vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
$\bar{X}$ =	3.05	4.81	6.46

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r=0.412$   $p<0.003$

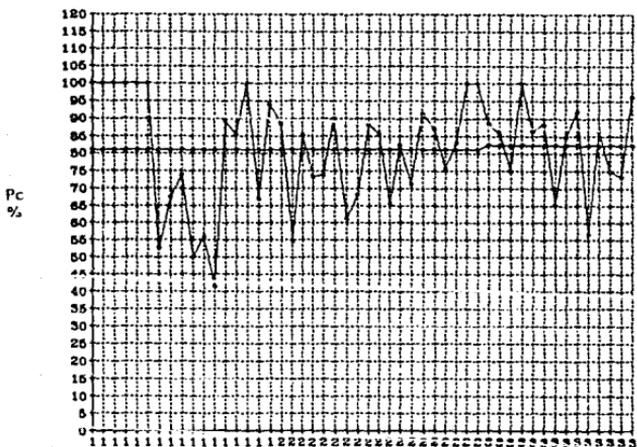
Correlación lineal significativa.

La edad gestacional tiene valor al explicar la variación de los valores L/E.

## Resultados

- 1.. Fosfolípidos en líquido amniótico.
- 1.2. Fosfatidocolina (Pc) contenida en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de gestación normal

### Fosfatidocolina vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
$\bar{X}$ =	81	81.2	82.4

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r=0.034$   $p<0.817$

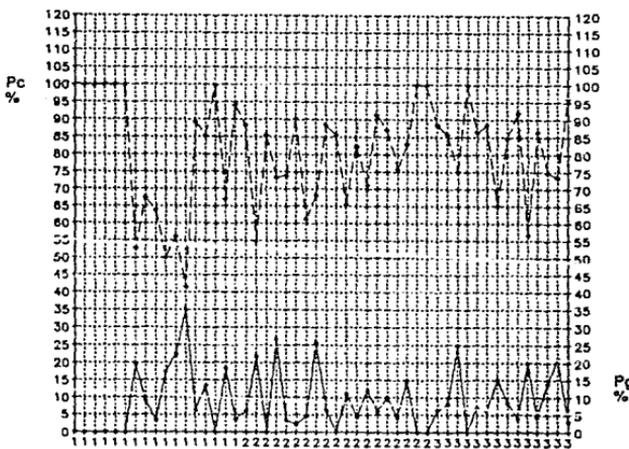
No existe relación lineal.

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de Pc.

## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico.
  - 1.2.1 Fosfatidilcolina (Pc) y Fosfatidilglicerol (Pg) contenidos en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de gestación:

### Fosfatidilcolina y Fosfatidilglicerol vs. Edad Gestacional



Periodo	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
Pc X=	81	81.2	82.4
Pg X=	8.75	8.42	10.24

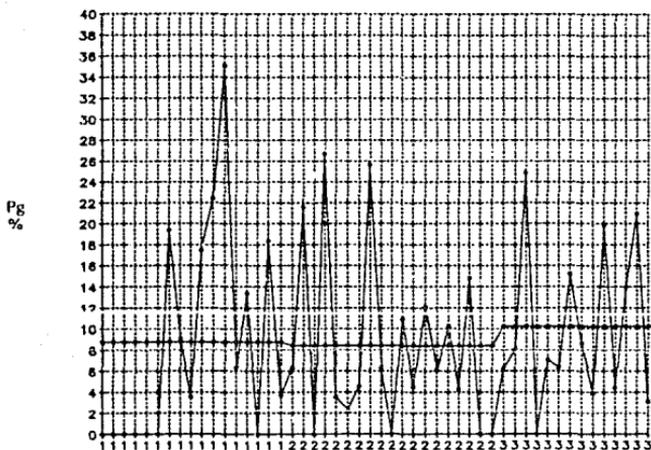
Coefficiente de determinación múltiple para N 50  $r=0.813$   $p<0.001$   
 Correlación lineal significativa.

Pc y Pg no son mutuamente independientes

## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico.
- 1.3 Fosfatidilglicerol (Pg) contenido en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de gestación normal.

### Fosfatidilglicerol vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
$\bar{X}$ =	8.75	8.42	10.24

Coefficiente de determinación múltiple para  $N=50$   $r=0.061$   $p<0.673$

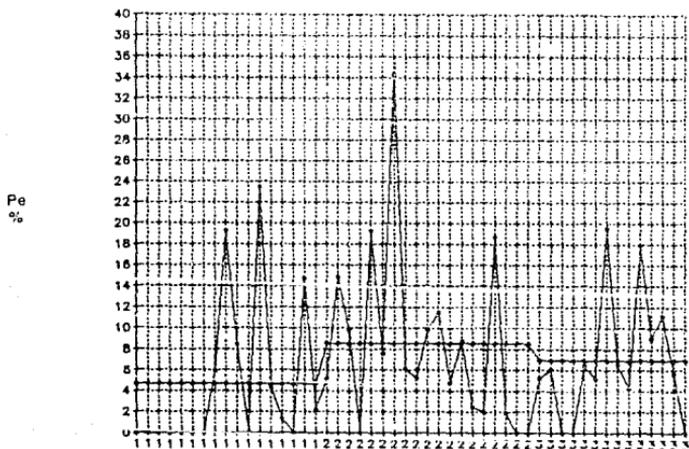
No existe relación lineal.

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de Pg.

## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico.
  - 1.4 Fosfatidiletanolamina (Pe) contenida en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de gestación normal.

### Fosfatidiletanolamina vs. Edad Gestacional:



Periodo	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
$\bar{X}$ =	4.69	8.54	6.94

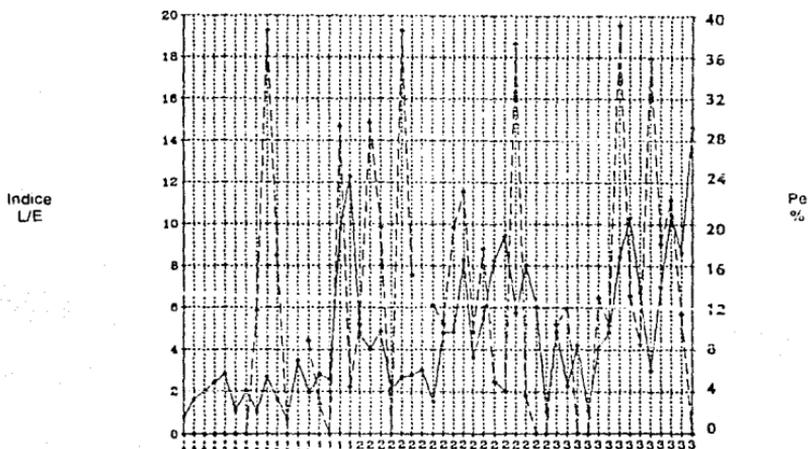
Coefficiente de determinación múltiple para N 50  $r=0.128$   $p<0.375$   
No existe relación lineal.

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de Pe.

## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico.
- 1.4.1 Fosfatidiletanolamina (Pe) y Lecitina-Esfingomielina contenidos en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de gestación normal.

### Fosfatidiletanolamina y Lecitina-Esfingomielina vs. Edad Gestacional:



Periodo	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
Pe X=	4.69	8.54	6.94
L/E X=	3.05	4.81	6.46

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r=0.338$   $p<0.002$

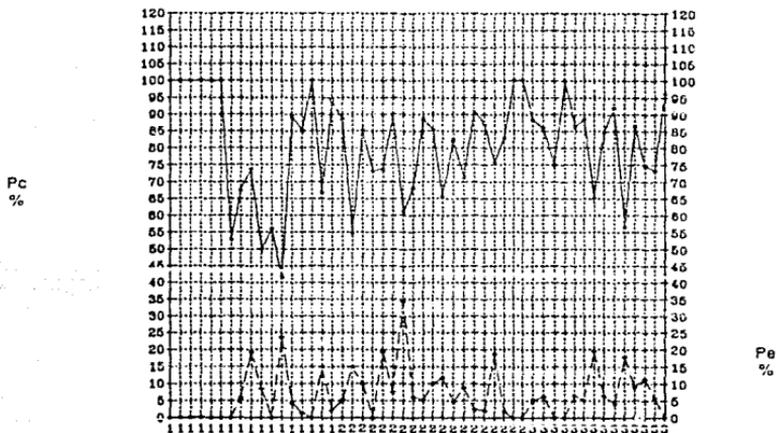
Correlación lineal significativa

L/E y Pe no son mutuamente independientes.

## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico.
- 1.4.2 Fosfatidilcolina (Pc) y Fosfatidiletanolamina (Pe) contenidos en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de gestación normal.

### Fosfatidilcolina y Fosfatidiletanolamina vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
Pe $\bar{X}$ =	4.69	8.54	6.94
Pc $\bar{X}$ =	81	81.2	82.4

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r^2=0.640$   $p<0.001$

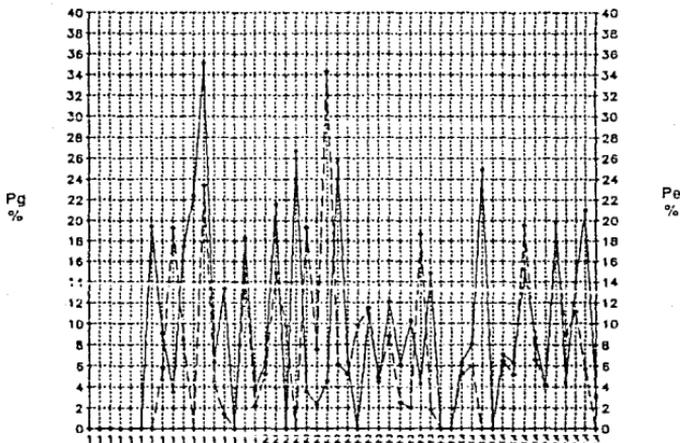
Correlación lineal significativa.

Pc y Pe no son mutuamente independientes.

## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico.
- 1.4.3 Fosfatidilglicerol (Pg) y Fosfatidiletanolamina (Pe) contenidos en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de gestación normal.

### Fosfatidilglicerol y Fosfatidiletanolamina vs. Edad Gestacional



Periodo	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
Pg $\bar{X}$ =	8.75	8.42	10.24
Pe $\bar{X}$ =	4.69	8.54	6.94

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r=0.319$   $p<0.05$

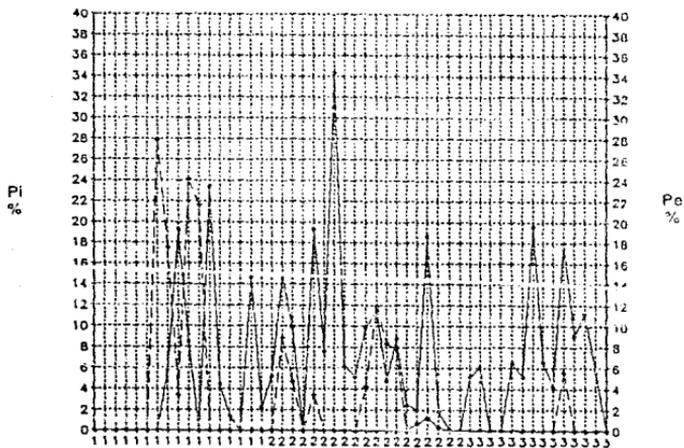
Correlación lineal significativa.

Pg y Pe no son mutuamente independientes.

## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico
- 1.4.5 Fosfatidilinositol (Pi) y Fosfatidiletanolamina (Pe) contenidos en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de gestación normal.

### Fosfatidilinositol y Fosfatidiletanolamina vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
Pi $\bar{X}$ =	5.56	2.73	0.40
Pe $\bar{X}$ =	4.69	8.54	6.94

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r=0.288$   $p<0.05$

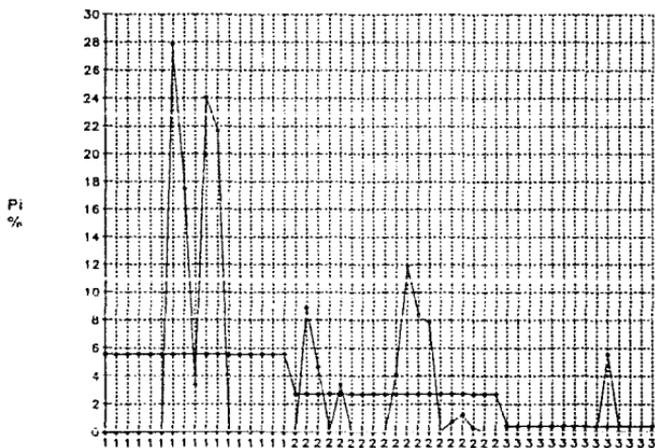
Correlación lineal significativa.

Pi y Pe no son mutuamente independientes.

## Resultados

1. Fosfolípidos en líquido amniótico.
- 1.5 Fosfatidilinositol (Pi) contenido en líquido amniótico en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.

### Fosfatidilinositol vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
$\bar{X}$ =	5.56	2.73	0.40

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r=-0.312$   $p<0.02$

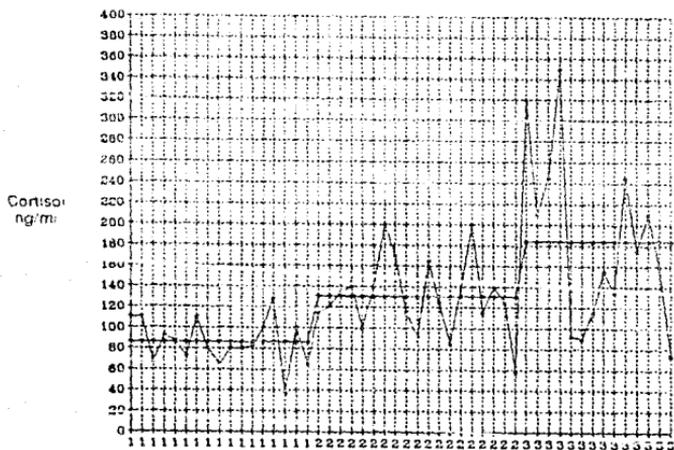
Correlación lineal significativa

La edad gestacional tiene valor al explicar la variación de valores de Pi.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
  - 2.1. Cortisol.
    - 2.1.1 Cortisol contenido en líquido amniótico.

Cortisol en L.A. vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
$\bar{X}$ =	86.32	130.55	184.04

Coefficiente de determinación múltiple para  $N=50$   $r=0.608$   $p<0.0001$

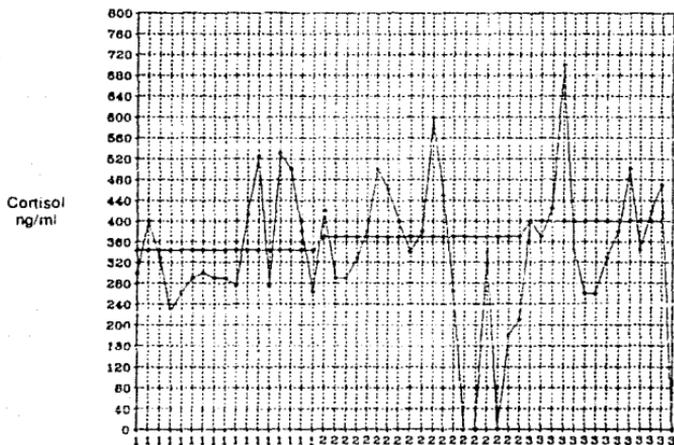
Correlación lineal significativa.

La edad gestacional tiene valor al explicar la variación de los valores de Cortisol en L.A.

**Resultados**

- 2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
  - 2.1. Cortisol.
  - 2.1.2 Cortisol en sangre materna.

**Cortisol en sangre materna vs. Edad Gestacional**



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 46
$\bar{X}$ =	344.12	369.84	400.39

Coefficiente de determinación múltiple para N=46  $r=0.212$   $p<0.157$

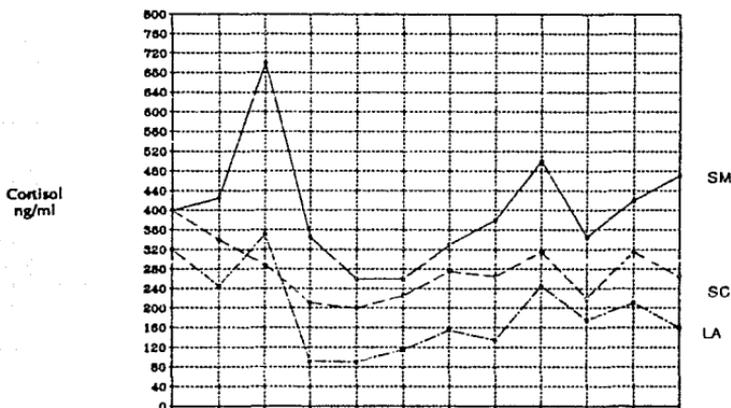
No existe relación lineal

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de Cortisol en sangre materna.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
  - 2.1. Cortisol
    - 2.1.3 Cortisol contenida en sangre materna, sangre de cordón umbilical y líquido amniótico durante el trabajo de parto.

### Cortisol en el trabajo de parto



Muestra	Sangre materna	Sangre de Co-dón	líquido amniótico
N=	12	12	12
$\bar{X}$ =	400.38	276.66	184.04

Coefficiente de determinación múltiple para N=12.

Cortisol en sangre materna vs. Cortisol en sangre de cordón  $r=0.688$   $p<0.05$   
 Cortisol en sangre materna vs. Cortisol en líquido amniótico  $r=0.838$   $p<0.005$   
 Cortisol en sangre de cordón vs. Cortisol en líquido amniótico  $r=0.831$   $p<0.005$

Correlación lineal significativa.

Los valores de Cortisol no son mutuamente independientes.

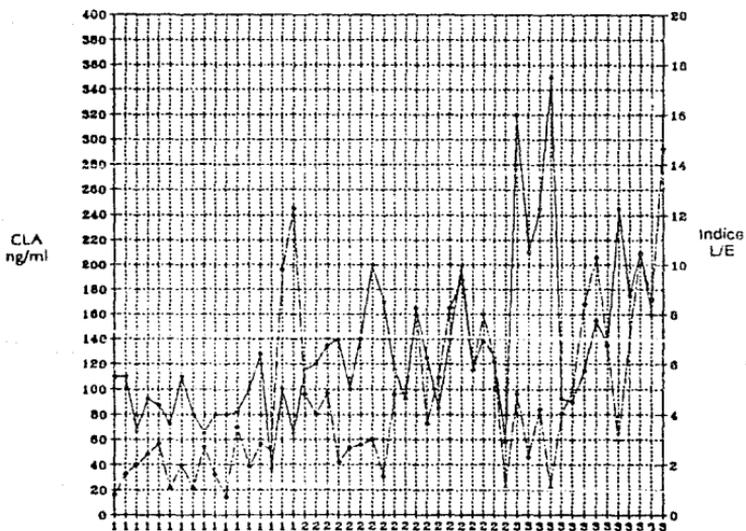
## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.

2.1. Cortisol

2.1.4 Cortisol y Lecitina Estingomielina (L/E) contenidos en L.A.

Cortisol y Lecitina/Estingomielina vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto	N=
CLA	$\bar{X}=86.32$	$\bar{X}=130.55$	$\bar{X}=184.04$	46
L/E	$\bar{X}=3.05$	$\bar{X}=4.81$	$\bar{X}=6.46$	

Coefficiente de determinación múltiple para  $N=46$   $r=0.331$   $p<0.05$

Correlación lineal significativa

El Cortisol en L.A. el índice L/E y la edad gestacional no son mutuamente independientes

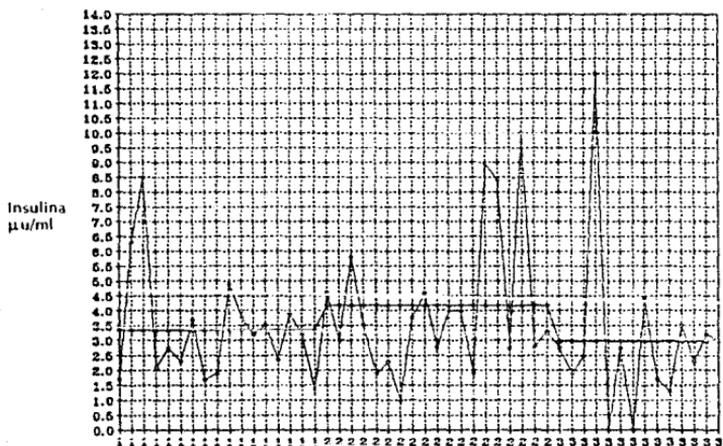
## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.

2.2. Insulina

2.2.1 Insulina contenida en líquido amniótico.

### Insulina en líquido amniótico vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
$\bar{X}$ =	3.35	4.18	2.96

Coefficiente de determinación múltiple para  $N=50$   $r=0.054$   $p<0.708$

No existe relación lineal.

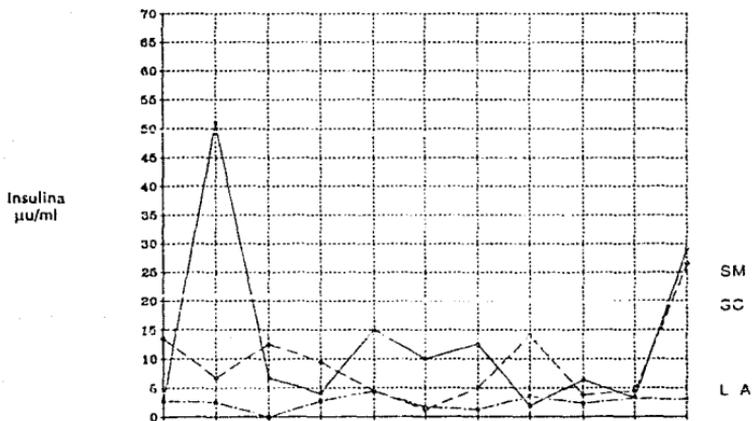
La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de insulina en L.A.



## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.2 Insulina
- 2.2.3 Insulina contenida en sangre materna, sangre de cordón umbilical y líquido amniótico durante el trabajo de parto.

### Insulina en el trabajo de parto



Muestra	Sangre materna	líquido amniótico	Sangre de cordón
N=	11	11	11
$\bar{X}$ =	12.43	2.95	7.26

Insulina en sangre materna vs. Insulina en sangre de cordón  $r=0.167$   $p=0.880$

Insulina en sangre materna vs. Insulina en líquido amniótico  $r=0.354$   $p=0.548$

Insulina en sangre de cordón vs. Insulina en líquido amniótico  $r=0.382$   $p=0.492$

No existe relación lineal

Los valores de Insulina son mutuamente independientes.

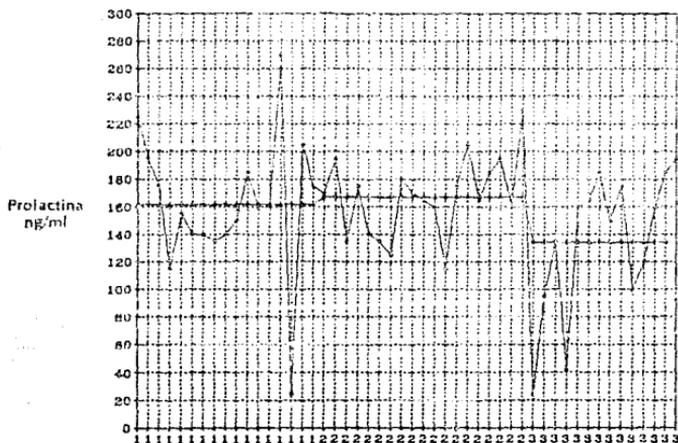
## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.

2.3. Prolactina

2.3.1 Prolactina contenida en líquido amniótico.

### Prolactina en líquido amniótico vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
$\bar{X}_n$	161.76	167.37	134.21

Coefficiente de determinación múltiple para  $N=50$   $r= 0.219$   $p<0.127$

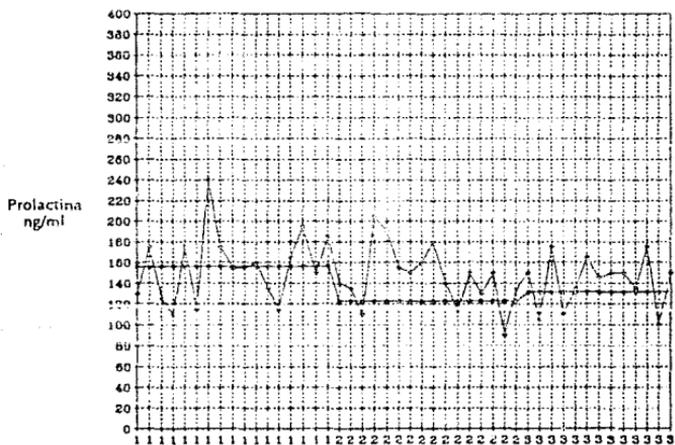
No existe relación lineal.

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de prolactina en L.A.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.3. Prolactina.
- 2.3.2 Prolactina en sangre materna.

(Prolactina en sangre materna vs. Edad Gestacional)



Periodo	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N <sub>s</sub>	17	16	13 = 46
X <sub>s</sub>	156.48	122.89	131.79

Coefficiente de determinación múltiple para N=46  $r=0.202$   $p<0.178$

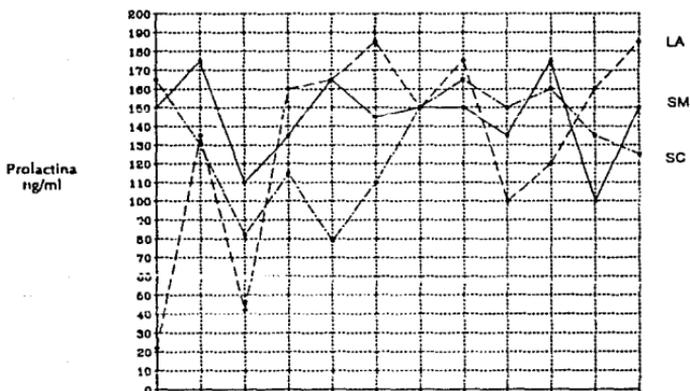
No existe relación lineal

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de prolactina en sangre materna.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal
- 2.3 Prolactina
- 2.3.3 Prolactina contenida en sangre materna, sangre de cordón umbilical y líquido amniótico durante el trabajo de parto.

### Prolactina en el trabajo de parto



Muestra	Sangre materna	líquido amniótico	Sangre de cordón
N=	12	12	12
$\bar{X}$ =	131.79	134.21	111.66

Coefficiente de determinación múltiple para N=12

Prolactina en sangre materna vs. Prolactina en sangre de cordón  $r=0.232$   $p=0.779$

Prolactina en sangre materna vs. Prolactina en líquido amniótico  $r=0.304$   $p=0.647$

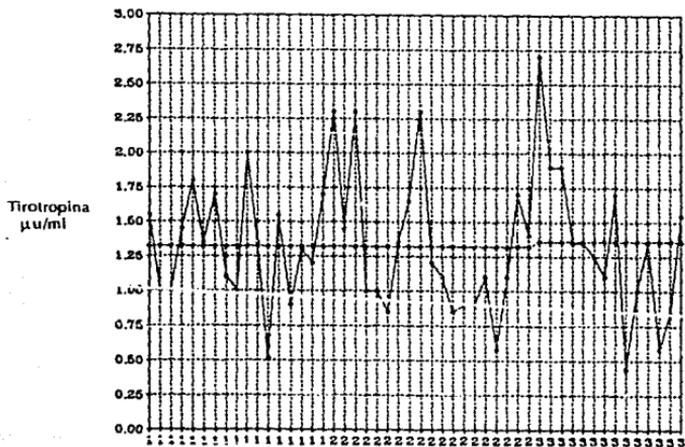
Prolactina en sangre de cordón vs. Prolactina en líquido amniótico  $r=0.275$   $p=0.701$

Los valores de Prolactina son mutuamente independientes.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.4. Tirotrópina (TSH)
- 2.4.1 Tirotrópina contenida en líquido amniótico.

### Tirotrópina en líquido amniótico vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
X=	1.32	1.32	1.36

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r=0.028$   $p<0.846$

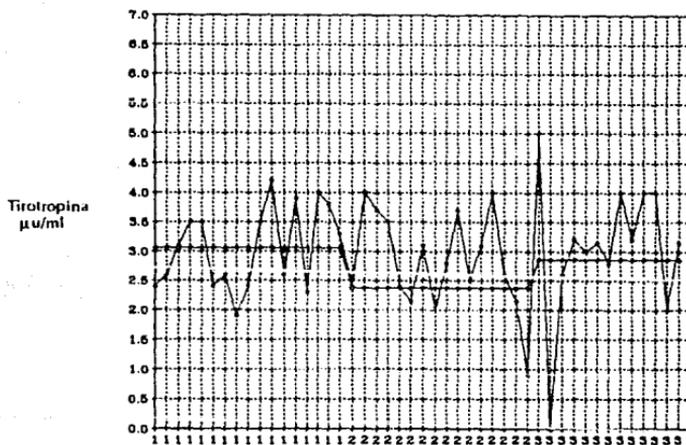
No existe relación lineal.

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de tirotrópina.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.4. Tirotrópina (TSH)
- 2.4.2 Tirotrópina contenida en sangre materna.

### Tirotrópina en sangre materna vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	16	13 = 46
X=	3.06	2.37	2.86

Coefficiente de determinación múltiple para  $N=46$   $r=0.119$   $p<0.436$

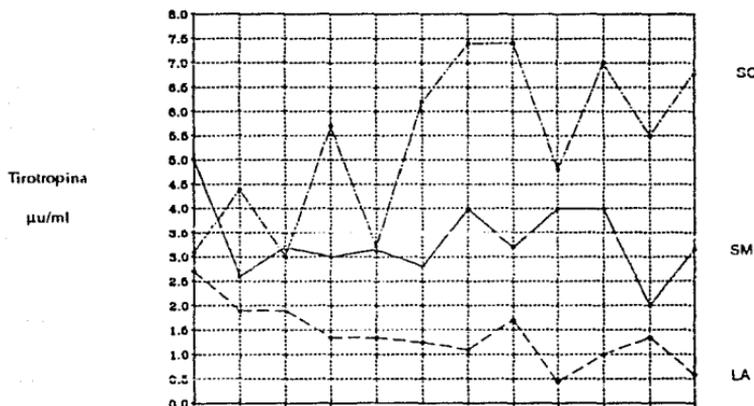
No existe relación lineal.

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de tirotrópina en sangre materna

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.4. Tirotrópina (TSH)
- 2.4.3 Tirotrópina contenida en sangre materna, sangre de cordón

### Tirotrópina en el trabajo de parto



Muestra	Sangre materna	liquido amniótico	Sangre de cordón
N=	12	12	12
$\bar{X}$ =	2.86	1.36	4.60

Coefficiente de determinación múltiple para N=12.

TSH en sangre materna vs. TSH en sangre de cordón  $r=0.335$   $p$ =no significativa  
TSH en sangre materna vs. TSH en liquido amniótico  $r=0.113$   $p$ =no significativa  
TSH en sangre de cordón vs. TSH en liquido amniótico  $r=-0.207$   $p$ =no significativa

No existe relación lineal.

Los valores de Tirotrópina son mutuamente independientes.





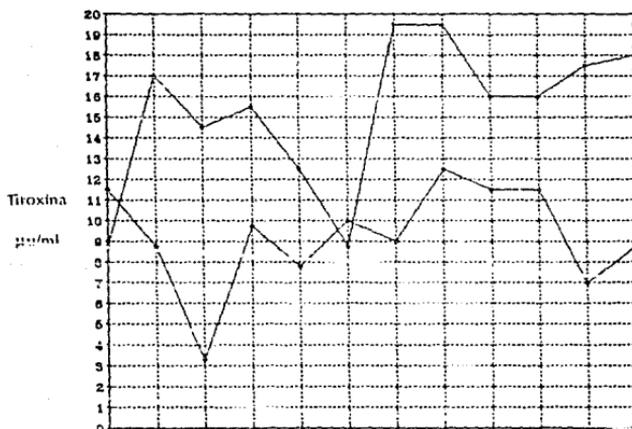
## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.

2.5 Tiroxina (T4)

2.5.3 Tiroxina contenida en sangre materna y sangre de cordón

### Tiroxina en el trabajo de parto



Muestra	Sangre materna	Sangre de cordón
N=	12	12
X=	14.04	7.95

Coefficiente de determinación múltiple para N=12.

T<sub>4</sub> en sangre materna vs. T<sub>4</sub> en sangre de cordón  $r=0.183$   $p=$ no significativa

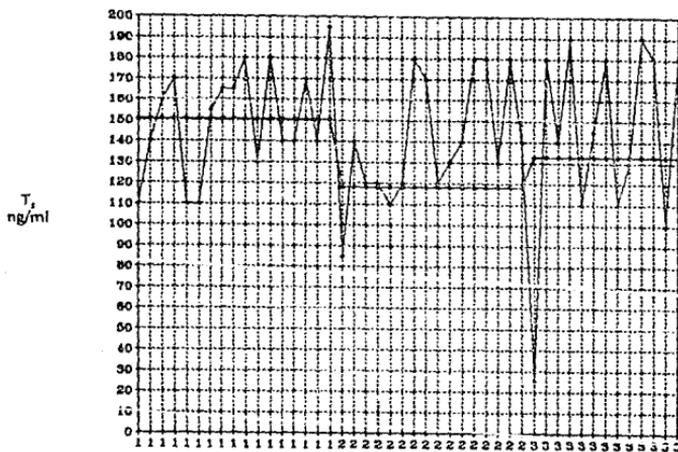
No existe relación lineal

Los valores de Tiroxina son mutuamente independientes

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.6. Triyodotironina ( $T_3$ )
- 2.6.2 Triyodotironina contenida en sangre materna.

### Triyodotironina en sangre materna vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	16	13 = 46
$\bar{X}$ =	150.59	118.16	132.86

Coefficiente de determinación múltiple para  $N=46$   $r=0.096$   $p<0.524$

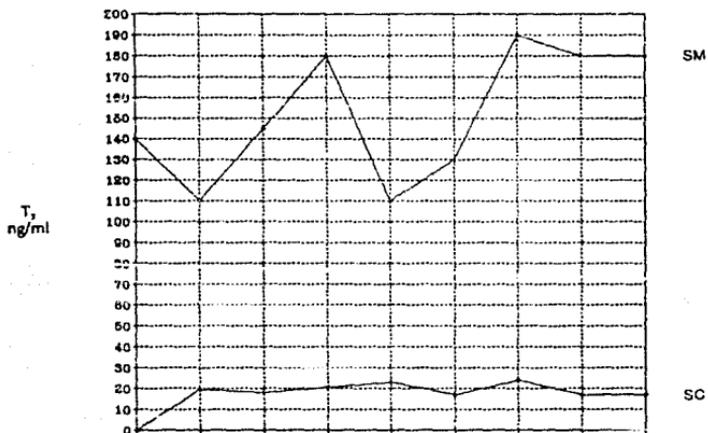
No existe relación lineal.

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de triyodotironina en sangre materna.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.6 Triyodotironina ( $T_3$ )
- 2.6.3 Triyodotironina contenida en sangre materna y sangre de cordón umbilical durante el trabajo de parto.

### Triyodotironina en el trabajo de parto



Muestra	Sangre materna	Sangre de cordón
N=	9	9
X=	132.86	11.14

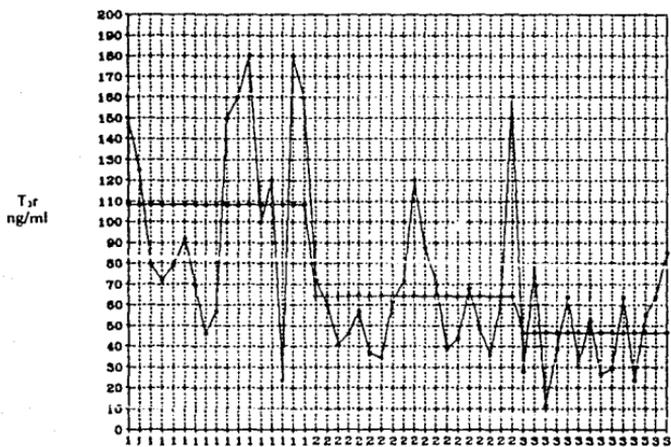
Coefficiente de determinación múltiple para N=9. No se procesó.

Los valores de triyodotironina son mutuamente independientes.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.7. Triyodotironina reversa (T3r)
- 2.7.1 Triyodotironina reversa en líquido amniótico.

### Triyodotironina reversa en líquido amniótico vs. Edad Gestacional



Período	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	19	14 = 50
X=	108.44	64.08	46.61

Coefficiente de determinación múltiple para N=50  $r = -0.566$   $p < 0.0001$

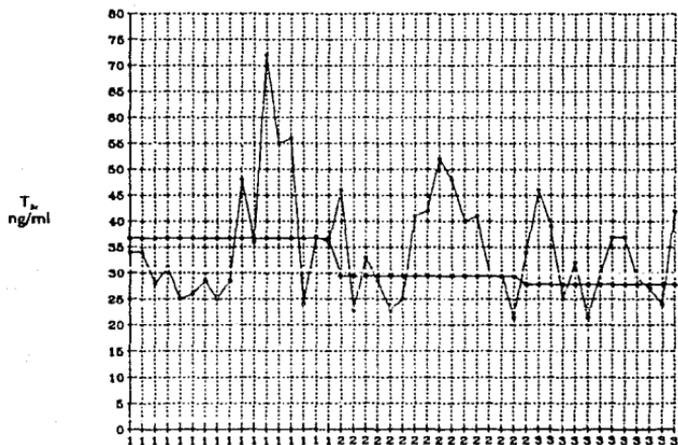
Correlación lineal significativa.

La edad gestacional tiene valor al explicar la variación de los valores de triyodotironina reversa en líquido amniótico.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.7 Triyodotironina reversa ( $T_r$ .)
- 2.7.2 Triyodotironina reversa contenida en sangre materna.

### Triyodotironina reversa en sangre materna vs. Edad Gestacional



Periodo	34 semanas	37 semanas	Trabajo de parto
N=	17	16	12 = 45
$\bar{X}$ =	36.71	29.37	27.82

Coefficiente de determinación múltiple para N=45  $r=0.082$   $p<0.595$

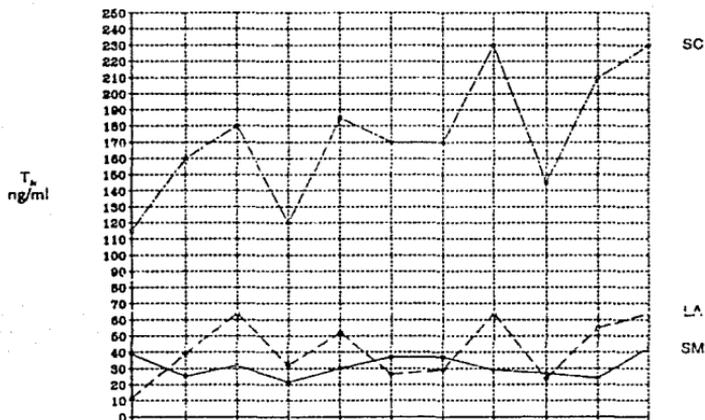
No existe relación lineal.

La edad gestacional no tiene valor al explicar la variación de los valores de triyodotironina reversa en sangre materna.

## Resultados

2. Hormonales en el curso del tercer trimestre de la gestación normal.
- 2.7 Triyodotironina reversa ( $T_3$ )
- 2.7.3 Triyodotironina reversa contenida en sangre materna, sangre de cordón umbilical y líquido amniótico durante el trabajo de parto.

### Triyodotironina reversa en el trabajo de parto



Muestra	Sangre materna	Líquido Amniótico	Sangre de cordón
N=	11	11	11
$\bar{X}$ =	27.82	46.61	141.07

Coefficiente de determinación múltiple para  $N=11$ .

T3r en Líquido Amniótico vs. T3r en Sangre de Cordón  $r=0.881$   $p<0.003$

Correlación lineal significativa.

Los valores de triyodotironina reversa no son mutuamente independientes.

## IX. ANALISIS DE RESULTADOS

### ANALISIS DE RESULTADOS.

4. SURFACTANTE PULMONAR.
- 4.1. LECITINA/ESFINGOMIELINA.

El significado del índice Lecitina/Esfingomielina (L/E) en líquido amniótico está bien establecido desde que fue descrito por Gluck y Col. en 1971 (49), y es considerado el más confiable de los procedimientos actualmente disponibles para medir la madurez fetal (51,53,55,56).

Los cambios en los valores L/E en líquido amniótico durante la gestación siguen los patrones de desarrollo anatómico, bioquímico y fisiológico del pulmón fetal (50). En los resultados de la Gráfica 1.1 los valores de L/E se correlacionaron directamente  $r=0.412$  con la edad gestacional con una  $p<0.003$ , por lo que la edad gestacional tiene valor al explicar la variación del índice L/E y por otra parte nos permitió asociar los valores y cambios hormonales presentes en líquido amniótico, sangre materna y sangre de cordón umbilical con los cambios bioquímicos (surfactante pulmonar) en líquido amniótico.

Un incremento del índice L/E es observado alrededor de la semana 34. Entre las 32 y 35 semanas un buen rango del índice L/E es reportado con valores de inmadurez (menores de 1.4) y madurez (mayores de 2), como lo demostraron Schreyer P. y col. (52) en 1974 al reportar en el curso del embarazo normal los siguientes valores: (Cuadro # 1)

CUADRO # 1 INDICE L/E Y MADUREZ PULMONAR.

SEMANA		INDICE L/E		N
	-1.4	1.5 a 1.9	+ 2.0	
34	16	7	9	32
37	1	0	86	87

En la cronología del embarazo normal el índice de L/E se incrementa marcadamente después de la semana 34-35 de gestación (50). Así que los valores reportados en el Cuadro # 2 a la semana 34  $n=17$  en el que el 47% de las muestras tuvieron valores de índice L/E mayores de 2 y a las 37

semanas el 89% de índices mayores de 2 con una media 4.81 coincide con lo reportado por la mayoría de los autores <sup>(55,56,59)</sup>.

En el T de P reportamos 93% de casos con índices mayores de 2 y solamente un caso (7%) con valores menores de 1.49 no presentando Síndrome de Dificultad Respiratoria ninguno del total de los recién nacidos estudiados (N=14) coincidiendo con lo señalado por otros autores <sup>(51)</sup>.

CUADRO # 2 INDICE L/E Y EDAD GESTACIONAL

Semanas de Gestación	L/E			N
	<1.5	1.5 a 2.0	>2.01	
		Número de Pacientes		
34 S.	4	5	8	17
37 S.	1	1	17	19
T de P	1	0	13	14
TOTAL	5	6	38	50

El promedio de L/E en líquido amniótico ha sido reportado que aumenta durante el T de P <sup>(1)</sup> como lo describimos en la Gráfica 1.1. Por lo que el trabajo de parto puede ser un factor importante en el desarrollo del Sistema Surfactante y en la prevención del SDR.

Todas las técnicas usadas que utilizan el índice L/E para determinar la madurez pulmonar presentan variaciones en la especificidad reportando un número de falsos negativos que van del 8 al 87% y un número de falsos positivos del 0 al 7% <sup>(54)</sup> impidiendo así precisar la posibilidad de madurez pulmonar fetal, quedando desde el punto de vista clínico como confiables solamente los resultados positivos ya que estos aseguran la madurez pulmonar <sup>(52)</sup>. Los porcentajes reportados como falsos tienen rangos muy amplios, lo que está determinado por diferentes variables entre las que destacan la técnica usada para la extracción del líquido y el procedimiento de lectura <sup>(49)</sup>. Los valores reportados de L/E (Cuadro # 2) coinciden con autores como Gluck <sup>(49)</sup> y Skjaeraasen-Pedersen <sup>(59)</sup> los cuales diseñaron las técnicas de extracción de lípidos y lectura que realizamos.

Existe gran variación paciente-paciente del índice L/E, de ahí que su relación da un margen de seguridad amplio cuando está por encima de los niveles discriminativos (índices mayores de 2), pero por el contrario es necesario practicar otros análisis en los casos que se encuentren por debajo de dichos límites a fin de establecer con mayor precisión los casos con verdadero alto riesgo de desarrollar SDR, con éste propósito la información actual sugiere el análisis de fosfatidilglicerol (Pg), fosfatidilinositol (Pi) y otras fracciones de fosfolípidos para obtener un perfil de madurez pulmonar completo<sup>(54)</sup>.

Durante el tercer trimestre de la gestación encontramos una correlación lineal  $r=0.338$  de L/E con fosfatidiletanolamina (Pe) con una  $p<0.002$  (Gráfica 1.4.1), lo que demuestra que no son mutuamente independientes y que manifiesta la participación de los mecanismos de síntesis de novo de fosfatidilcolina (Pc), en especial la vía de metilación<sup>(2)</sup> en donde la etanolamina sufre pasos de fosforilación, activación y fijación para la formación de Pc, la que posteriormente sufrirá tres metilaciones sucesivas sirviendo la *s. adenosilmetionina* como donador de metilo para formar Pc. ¿Pero probablemente a partir de la semana 34 de la gestación la participación de esta vía en la producción total de Pc sea muy discreta?. Como ha sido reportado en la literatura<sup>(1)</sup> y sugerido en nuestro estudio, al notar que los valores de Pc no muestran correlación lineal  $r=0.034$  con la edad gestacional a partir de la semana 34 (Gráfica 1.2) ni diferencias significativas entre los diferentes grupos (semana 34,37 y T de P). Lo que habla a favor de que los mecanismos reguladores de la madurez pulmonar tenderían a mantener un valor estable de Pc característico de madurez en el embarazo normal después de la semana 34.

No encontramos correlación lineal de la Pe  $r=0.128$  con la edad gestacional  $p=0.375$  (Gráfica 1.4), pero sí correlación lineal  $r=0.640$  de Pc con Pe con una  $p<0.001$  (Gráfica 1.4.2) que nos demuestra que no son mutuamente independientes apoyando la posibilidad de la existencia de mecanismos alternos en la producción de Pc. Encontramos correlación lineal  $r=0.319$  y  $r=0.288$  de Pe con Pg y Pi respectivamente con  $p<0.005$  como se muestra (Gráfica 1.4.3 y 1.4.4), que nos demuestra que no son mutuamente independientes. Antecedente que habla a favor de la presencia de mecanismos de regulación que adquieren importancia en el período de madurez pulmonar fetal como podrían ser los mecanismos de remodelación, en especial el de transacilación en la formación de Pc.

Bleasdale y col. <sup>(1)</sup> en cultivo de tejidos, describe que el aumento en la síntesis de Pc vía la reacción colinafosfatotransferasa resulta en un incremento en la generación de CMP (reacción 1), y así el aumento de CMP se dirige hacia la reacción CDP diacilglicerol inositol 3 fosfatidiltransferasa en dirección inversa con un aumento consecuente en la síntesis de CDP diacilglicerol (reacción 2). Esto entonces:

CDP COLINA + DIACILGLICEROL - FOSFATIDILCOLINA + CMP (Reacción 1).

CDP DIACILGLICEROL + INOSITOL = FOSFATIDILINOSITOL + CMP (reacción 2).

deja disponible Pc para el aumento en la síntesis de Pg. A lo que Batenburg y col <sup>(1)</sup> arguyen que a pesar de que hay un incremento en el promedio de síntesis de Pg en las células tipo II, cuando la síntesis de Pc fué estimulada hay también un incremento más que un decremento en la síntesis de Pi.

En la Gráfica 1.5 reportamos un decremento más que un incremento en la síntesis de Pi, lo que apoya la propuesta de Bleasdale y col. Por lo tanto la posibilidad de la existencia de una vía alterna que puede adquirir importancia relativa en un momento aún no identificado; ya que no se sabe que proporción de Pc es sintetizada por cada uno de estos mecanismos.

No encontramos correlación lineal de L/E con Pg y Pi, lo que está a favor de la existencia de mecanismos independientes en su formación.

En relación a los hormonales se encontró una correlación lineal  $r=0.331$  del índice L/E con cortisol total en LA con una  $p<0.05$  (Gráfica 2.1.4), lo que nos demuestra que no son mutuamente independientes. Hay un incremento del cortisol en LA durante el desarrollo del embarazo normal, FencI y Tuichinsky lo reportaron a partir de la semana 34, desde entonces un buen rango de correlación entre cortisol e índice L/E fué encontrado por más autores, aunque por no todos los investigadores <sup>(60)</sup>. Más recientemente Smith <sup>(60)</sup> concluye que el rango de cortisol en LA sostiene una estrecha relación con la edad gestacional y madurez pulmonar, lo que confirmamos al reportar la correlación lineal  $r=0.608$  del cortisol en LA con la edad gestacional con una  $p<0.0001$  (Gráfica 2.1.1).

Si esta relación entre cortisol en LA y la madurez pulmonar es incidental o si ella representa una causa y/o un efecto, no es conocida en el presente <sup>(60)</sup>. Extiendiendo la posibilidad de que ésta correlación sea incidental, probablemente como consecuencia del estrés manifiesto en el momento de la toma de la muestra.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS.

4. SURFACTANTE PULMONAR.
- 4.2. FOSFATIDILCOLINA (Pc).

Con el incremento en la madurez pulmonar, altas concentraciones de lecitina (Pc) aparecen en LA <sup>(50)</sup>. Al acercarse la semana 34-35 del embarazo <sup>(50)</sup>, se eleva la concentración de lecitina en el espacio alveolar y de ahí se difunde al LA siendo este un índice de madurez pulmonar <sup>(51)</sup>.

No encontramos correlación lineal  $r=0.034$  de Pc con la edad gestacional,  $p<0.817$  ni diferencias significativas entre los tres periodos estudiados (Gráfica 1.2), reportando un valor medio de Pc de 81.53% del 100% del total de fosfolípidos estudiados a partir de la semana 34.

Esto como consecuencia de que a partir de la semana 34 y hasta el término de la gestación los niveles de Pc contribuyen con cerca del 80% del total de los fosfolípidos en surfactante, como lo describió Hallman y Kulovich <sup>(61)</sup>, siendo esto característico del periodo de madurez pulmonar. Encontramos correlación lineal negativa  $r=-0.813$  entre Pc y Pg (Gráfica 1.2.1) con una  $p=0.01$ , Pc con Pe con una  $r=-0.640$  (Gráfica 1.4.2) y Pc con Pi con una  $r=-0.578$  con una  $p<0.001$ , lo que demuestra que no son mutuamente independientes, planteándose así la posibilidad de su utilización en la producción de novo de Pc a través de los mecanismos de remodelado.

Lo cual explicaría porqué los mecanismos para las reacciones de interconversión metabólica pueden influir en la distribución de lípidos no proporcionando una síntesis neta de fosfolípidos y por lo tanto no pueden originar un aumento en la cantidad de surfactante pulmonar, lo que permitiría una mayor flexibilidad metabólica, aumento del potencial celular para rápida producción de fosfolípidos específicos y que el organismo se adapte a situación de alarma.

En los hormonales, encontramos solamente correlación lineal negativa  $r=-0.676$  en el periodo de T de P entre Pc y la hormona T<sub>3</sub> en suero fetal con una  $p<0.05$ , lo que establece que no son mutuamente independientes. Se reporta en el pulmón fetal de conejos, un aumento de la Pc después del T de P <sup>(1)</sup>, efecto al parecer causado por un aumento en la secreción de Pc <sup>(1)</sup>. En relación a la hormona tiroidea se describe que sus receptores están presentes en pulmón y se incrementan con el desa-

rollo hacia el final de la gestación<sup>(1)</sup>. La hormona tiroidea aumenta la síntesis de Pc, no atraviesa la placenta, por lo que ha sido administrada al conejo fetal durante la laparoscopia, procedimiento que resultó en una aceleración en la maduración del pulmón, posiblemente por vía de un mecanismo mediador de estrés<sup>(1)</sup>. La triyodotironina administrada a la rata madre aumenta la síntesis de Pc en pulmón fetal<sup>(1)</sup>. Así que el efecto de las hormonas tiroideas queda aún por ser esclarecido<sup>(1)</sup>.

Por lo que en los resultados de T<sub>3r</sub> en sangre de cordón umbilical (Gráfica 2.7.3) reportados en el T de P y la correlación lineal negativa  $r = -0.676$  con una  $p < 0.05$  en el período de Trabajo de Parto entre la Pc y la hormona T<sub>3r</sub> en suero fetal parece ser un hallazgo incidental y sin relación con el proceso de madurez pulmonar, ya que los valores de T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub> no mostraron correlación lineal con la Pc ni con ningún otro fosfolípido esperado como consecuencia de que los mecanismos de monodeionización se caracterizan por una conversión preferencial de T<sub>4</sub> a T<sub>3r</sub> y un bajo promedio en la conversión periférica de T<sub>4</sub> a T<sub>3</sub>.

#### ANÁLISIS DE RESULTADOS.

4. SURFACTANTE PULMONAR.
- 4.3. FOSFATIDILGLICEROL (Pg).

Sjogercasen y Pedersen<sup>(59)</sup> describen que el Pg puede no ser detectado en LA por métodos densitométricos antes de la semana 34 de la gestación, pero después de la semana 36 se incrementa marcadamente alcanzando sus niveles máximos a las 38-40 semanas, representando un 10 a 20% de la concentración total de lecitina.

En nuestro estudio el Pg representó el 13.80% del total de Pc. No encontrando correlación lineal con la edad gestacional, ni diferencia significativa entre los valores reportados en los tres grupos, lo cual es característico del período de madurez pulmonar después de la semana 34 de gestación.

El Pg probablemente determina la función del surfactante pulmonar en la estabilización alveolar ya que tiene una alta actividad de superficie y por lo tanto su ausencia en LA indicaría que el surfactante puede no ser maduro, explicando así el porqué estuvo ausente en el LA de niños con SDR.

El cortisol acelera la maduración fetal pulmonar y estimula el radio de incorporación de colina dentro de fosfatidilcolina como se mostró al agregar cortisol a las piezas de pulmón o trasplantes de cultivos en los que se incrementó la actividad de la citidiltransferasa principalmente en su porción citosólica, aumentada varias veces solo si se encontraba también el fosfatidilglicerol u otro fosfolípido ácido en la mezcla de ensayo (1).

Por lo que probablemente el efecto estimulador del cortisol en la citidiltransferasa citosólica mediado por fosfolípidos en el pulmón fetal humano sea sugerido por el hallazgo de la correlación lineal  $r=0.349$  entre el fosfatidilglicerol y cortisol total en LA, con una  $p<0.05$ .

La actividad de la citidiltransferasa en sí misma puede ser regulada por un número de mecanismos, incluyendo fosforilación, defosforilación, nivel de ácidos grasos, fosfolípidos, translocación de citosol a microsomas. Por lo que estudios posteriores serán necesarios para determinar si este mecanismo se aplica al caso del cortisol. Aún más, si el Pg se define como un índice de madurez necesariamente debe aún ser clarificado (61).

Diversos estudios sugieren fuertemente que la citidiltransferasa de fosfato de colina cataliza la reacción promedio limitante en la síntesis de novo de Pc en células tipo II.

Encontramos correlación lineal significativa de Pg con Pi, sugiriendo que la síntesis de estos fosfolípidos son independientes, confirmando lo descrito en la literatura (1).

Encontramos correlación lineal  $r=0.319$  de Pg con Pe con una  $p<0.05$  (Gráfica 1.4.3), que podría sugerir nuevamente junto con el hallazgo de correlación lineal negativa  $r=-0.813$  de Pc con Pg con una  $p<0.001$ , la producción de Pc a partir de la conversión de Pg en Pe y esta en Pc (Gráfica 1.4.2) tomando este como un mecanismo secundario o vía alterna característica del pulmón en desarrollo; sugiriendo la participación del segundo mecanismo de novo en la síntesis de fosfatidilcolina llamado Vía de Metilación (1). Por otro lado, hay reportes que describen que los corticoides aumentan la síntesis de novo de Pc en pulmón fetal estimulando específicamente la vía de incorporación de colina sin alterar el mecanismo de metilación de la Pe (1).

#### **ANALISIS DE RESULTADOS.**

##### **4. SURFACTANTE PULMONAR.**

##### **4.4. FOSFATIDILETANOLAMINA (Pe).**

La fosfatidiletanolamina se considera un componente menor del surfactante pulmonar<sup>(6,11)</sup>. Lo reportamos formando el 6.7% del total de surfactante en el tercer trimestre de la gestación normal, no mostrando correlación lineal  $r=0.128$  con una  $p<0.375$  con la edad gestacional, lo que nos demuestra que no son mutuamente independientes, pero si encontramos diferencia en sus valores entre las 34 y 37 semanas (Gráfica 1.4), y su ausencia cuando los índices de L/E fueron menores de 2 (Gráfico 1.4.1).

Previamente en el punto 1.4 reportamos correlación  $r=0.338$  de Pe con L/E con una  $p<0.02$  y correlación negativa  $r=-0.640$  de Pe con Pc con una  $p<0.001$ . Sugiriendo la utilización de la Pe, probablemente en la vía de metilación, que conjuntamente con el hallazgo de la correlación lineal  $r=0.319$  de Pe con Pg con una  $p<0.05$  (Gráfica 1.4.3) y una correlación lineal  $r=0.288$  de Pe con Pi con una  $p<0.05$  (Gráfica 1.4.5), nos llevaría a señalar nuevamente la posible participación de los mecanismos de remodelación en el período de madurez pulmonar fetal descrito.

#### **ANALISIS DE RESULTADOS.**

##### **4. SURFACTANTE PULMONAR.**

##### **4.5 FOSFATIDILINOSITOL (Pi).**

Hallman describe que el Pi se incrementa a partir de las 30 semanas de la gestación alcanzando su pico a las 36-37 semanas para posteriormente decrecer gradualmente<sup>(6,12)</sup>, guardando una correlación lineal con la edad gestacional y con el índice L/E señalando que cuando el índice L/E es mayor de 2 el surfactante contiene más del 7.2% de Pi. Por lo que el Pi, el Pg y el índice L/E están en función de la edad gestacional.

En nuestro reporte el Pi representó el 5.56% a la semana 34, el 2.75% a la semana 37 y el .4% durante el T de P (Gráfica 1.5), con una correlación lineal  $p<0.02$  con la edad gestacional. Lo que habla de que no son mutuamente independientes, sugiriendo su no producción o su utilización a través de los mecanismos de remodelación para la producción de otros

fosfolípidos, explicándonos así el porqué de la correlación lineal  $r=0.288$  de  $P_i$  con  $P_e$  con una  $p<0.05$  (Gráfica 1.4.5).

Otros investigadores describen también este decremento de los niveles de inositol en suero en el feto hacia el final de la gestación, reportando que los niveles de inositol regulan la síntesis de fosfatidilinositol y fosfatidilglicerol<sup>(61)</sup>.

## RESULTADOS.

### 5. HORMONALES.

#### 5.1. CORTISOL

##### 5.1.1. CORTISOL EN LIQUIDO AMNIOTICO.

Baird y Bush<sup>(60)</sup> fueron los primeros en medir el cortisol en La (CLA) en el embarazo a término, descubrimiento que fue confirmado por otros investigadores, encontrando alguna de ellos su incremento conforme progresa el embarazo, reportando un buen rango de correlación con el índice L/E (Cuadro # 3).

CUADRO # 3

CORTISOL EN LIQUIDO AMNIOTICO.

INVESTIGADOR	CLA.	N	EMBA- RAZO	SEMANA	CORRE- LACION
	ng/ml				
	$\bar{X} \pm DS$				L/E
Fencel-Tulchinsky (60)	72.4 $\pm$ 3.8	43	Normal	34-40	$p<0.001$
Sivakumaran (62)	202 $\pm$ 95	45	Normal	37-40	—
Vanna K (62)	34.5 $\pm$ 17.5	50	Normal	34-42	$p<0.01$
Nosotros	108 $\pm$ 31.3	36	Normal	34-37	$p<0.05$

Encontramos correlación lineal  $r=0.608$  del cortisol con la edad gestacional con una  $p<0.0001$  lo que sugiere que no son mutuamente independientes y aumento significativo durante el T de P (Gráfica 2.1.3). Pakoly sugiere que los aumentos observados en el T de P del cortisol fetal y LA ocurren como resultado del estrés<sup>(60)</sup>.

El origen de los CLA no es bien conocido, sin embargo se sugiere que una gran proporción se encuentra en forma no conjugada principalmente, y probablemente derivada de fuente materna y los corticoides conjugados derivados de fuente fetal<sup>(60)</sup>.

FencI y Tulchinsky <sup>(60)</sup> midiendo las concentraciones de cortisol total observaron un incremento en LA después de las 34 semanas de gestación, encontrando un buen rango de correlación entre el cortisol y el índice L/E, sugiriendo que el cortisol total en LA puede reflejar la iniciación de la maduración pulmonar fetal, lo cual fue propuesto también por otros investigadores.

Encontramos esta correlación lineal  $r=0.331$  del CLA con el índice L/E con una  $p < 0.05$  (Gráfica 2.1.4), lo que demuestra que no son mutuamente independientes pero no podemos hablar de un valor predictivo de los niveles de CLA a fin de expresar la madurez pulmonar a través de su relación con el índice L/E como fue propuesto por FencI y Tulchinsky. (Cuadro # 4).

CUADRO # 4

CORTISOL EN LA Y SU RELACION  
CON LA MADUREZ PULMONAR.

CORTISOL		INDICE L/E		N
ng/ml	1.5	1.5 a 2	2	
60	0	3	23	26
40-60	1	3	1	5
40	12	0	0	12
TOTAL.	13	6	24	43

Ya que nuestros valores fueron superiores y con mayor dispersión (Cuadro # 5), lo que fué también reportado por otros autores <sup>(62)</sup>, invalidando así su utilidad práctica, como valor predictivo.

CUADRO # 5

CORTISOL EN LA Y SU RELACION CON EL INDICE L/E.

CORTISOL		INDICE L/E	N	
ng/ml	1.5	1.5 a 2	2	N=50
80	4	2	4	
110	1	3	9	
140	1	1	25	
TOTAL.	6	6	38	

El aumento de CLA ocurrido después de la semana 34 de la gestación y que continúa conforme progresa el embarazo puede reflejar el aumento en la producción de cortisol por la glándula adrenal fetal<sup>(65)</sup>, siendo ésta la responsable de la inducción del proceso de maduración pulmonar fetal. Varias observaciones clínicas experimentales han apoyado esto al mostrar que la maduración del pulmón fetal y la producción de surfactante pueden ser aceleradas por la administración de corticoides al feto o a la madre, aún más en niños con edad gestacional comparable, los niveles de cortisol en sangre de cordón umbilical fueron mayores en recién nacidos (RN) en los cuales el SDR no se desarrolló, que en aquéllos que sí se dió. También la no ocurrencia del SDR en los RN fue observada cuando 48 hrs antes del T de P el total de cortisol en suero fetal fué mayor de 60 ng/ml. Pero este hecho también nos sugiere Fencl y Tulchinsky no debe ser mal interpretado ya que la información proveniente de la concentración de cortisol predice que el proceso de inducción de la madurez pulmonar se ha iniciado y el índice L/E refleja el material surfactante acumulado. Por lo tanto si los corticoides en LA ejercen un efecto en la maduración fetal vía su contacto directo con el pulmón, en el presente no es conocido<sup>(60)</sup>.

Lo que parece sin embargo, improbable es que el cortisol en LA tenga un mayor efecto, ya que son relativamente más bajas las concentraciones de cortisol no conjugado en LA comparado con los de la circulación fetal<sup>(60)</sup>.

#### **ANALISIS DE RESULTADOS.**

##### **5. HORMONALES.**

##### **5.1. CORTISOL.**

##### **5.1.2 CORTISOL EN SANGRE MATERNA.**

No encontramos correlación lineal significativa del cortisol en sangre materna con la edad gestacional, ni con el índice L/E, pero sí correlación lineal  $r=0.838$  del cortisol en sangre materna (CSM) con el cortisol en LA (CLA)  $p<0.005$ , como también ya había sido descrito por Varma y col.<sup>(62)</sup> al medir el CLA, CSM y su correlación con el índice L/E en mujeres embarazadas normales y anormales entre las 34 y 42 semanas, reportando: (Cuadro # 6).

CUADRO 6

AUTOR: VARMA

	CLA.		L/E		CSM		L/E
$\bar{x}$	RANGO	N	p	$\bar{x}$	RANGO	N	p
34.5 ± 17.5	6-108	58	<0.01	226 ± 84.6	93-400	34	—

Ademas sugiero para reducir el amplio rango de variación del CSM establecer un valor índice, con lo que obtuvo un rango que correlacionó con el índice L/E obteniendo así un valor significativo. Por lo que nosotros decidimos realizar el mismo procedimiento a fin de confirmar el índice CLA/CSM como variable predictiva de madurez pulmonar no obteniendo los mismos resultados:

AUTOR	$\bar{x}$	CLA/CSM		L/E
	$\bar{x}$	RANGO	N	p
Varma	0.14 ± 0.09	0.03 - 0.4	50	0.01
Nosotros	0.35 ±	0.07 - 0.8	50	—

A pesar de que Varma reportó una correlación significativa entre el índice CLA/CSM con el índice L/E estadísticamente encontramos que el CLA con el índice L/E (Gráfica 2.1.4) tiene una correlación lineal  $r=0.331$  significativa con una  $p<0.05$  pero con variaciones individuales menores, lo que nos permite proponer que independientemente de las variaciones registradas en los valores del CLA éste mantiene una correlación lineal significativa con el índice L/E, lo que le otorga un valor predictivo.

Otra característica que observamos entre las concentraciones de CSM y el CLA es una mayor concentración materna durante todo el tercer trimestre con una proporción 4:1 a la semana 34; 3:1 a la semana 37, y 2:1 durante el T de P.

Migeon y col. <sup>(60)</sup> así como otros investigadores propusieron para explicar esto que el cortisol puede atravesar la placenta de la madre al feto describiendo que los niveles de cortisol materno fueron siempre mayores que en los infantes al nacimiento. Jalivet <sup>(60)</sup> describe que el cortisol en

LA en las 36 a 38 semanas de gestación es el doble un día antes del parto. Murphy <sup>(60)</sup> reporta que las concentraciones de cortisol en LA no conjugado (origen materno) aumenta 5 ng/ml de las 10 a 15 semanas de gestación a 10 ng/ml de las 25 a 35 semanas, seguido por un aumento a 22 ng/ml en las últimas dos semanas del embarazo.

Por lo que la relación entre CSM y el CLA hacen evidente que parte del CLA es de origen materno como ya fue descrito por Alvimovich <sup>(60)</sup> al encontrar radioactividad significativa en plasma fetal y LA posterior a la infusión de cortisol tritiado dentro de la circulación materna.

Las diferencias de proporción descritas en los diferentes periodos apoyan la observación de que la fracción de CSM que atraviesa la placenta contribuye significativamente al cortisol en LA pero probablemente las diferencias sean menores al término por el aumento de contribución de cortisol fetal al L.A. A lo que parece probablemente que este factor pueda ser altamente variable particularmente en relación a los cambios en la concentración en plasma materno <sup>(60,62)</sup>.

Patrick <sup>(63)</sup> refiere que la concentración media de cortisol en suero materno a las 34 semanas mostró un ritmo circadiano con picos de  $402 \pm 62$  ng/ml. a las 8:30 hrs. y con  $141.15$  ng/ml en su nadir y a las 38 semanas las concentraciones pico fueron a las 7:30 hrs. con valores de  $386 \pm 35$  ng/ml con niveles de  $221 \pm 26$  ng/ml en su nadir.

A las 34 semanas (Gráfica 2.1.2) reportamos valores  $\bar{X}$  de  $344.12$  ng/ml y a las 37 semanas valores  $\bar{X}$  de  $309.34$  ng/ml (tomadas las muestras entre las 8 y las 10 hrs). Durante el T de P reportamos valores  $\bar{X}$  de  $400.39$  ng/ml, tomadas las muestras en diferentes horas del día y de la noche y en el transcurso del primer periodo del T de P, sin tomar en cuenta su duración. Lo que habla de la existencia de diferentes variables no controladas y que influyeron en la dispersión de los datos.

El incremento del cortisol durante el T de P y principalmente en el primer periodo, se propone son consecuencia del estrés <sup>(60)</sup>. El incremento en cortisol materno durante el T de P en respuesta a un creciente aumento de los niveles de ACTH <sup>(60)</sup>, está en discrepancia con los aumentos de ACTH fetal durante el T de P., por lo que concluimos que los valores maternos y fetales de ACTH no están correlacionados al nacimiento.

La evidencia en la literatura sugiere que los glucocorticoides administrados en la mujer y que atraviesan la placenta afectan la función feto pituitaria adrenal y plantean la hipótesis <sup>(63)</sup> de que la función feto pituitaria adrenal puede ser influenciada por glucocorticoides endógenos maternos durante cierto tiempo durante el embarazo. También especulan que otros eventos como el pronunciado incremento en los niveles de cortisol materno durante el parto son debidos a que se excede la capacidad de la 11 óxido reductasa en la placenta, enzima responsable de la conversión del cortisol a cortisona, lo cual traería como consecuencia el aumento de cortisol.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS.

### 5. HORMONALES

#### 5.1 CORTISOL.

##### 5.1.3. CORTISOL EN EL TRABAJO DE PARTO.

Encontramos correlación lineal de cortisol total entre los tres compartimientos estudiados durante el T de P (Gráfica 2.1.3), evento que fué reportado también por otros investigadores <sup>(60,64,65)</sup>, algunos de los cuales también reportaron un aumento pronunciado en los niveles de cortisol en plasma durante el T de P en muestras de sangre materna y fetal simultáneamente <sup>(64)</sup>.

Encontramos correlación lineal  $r=0.665$  (Gráfica 2.1.3) entre el cortisol en sangre materna y sangre de cordón umbilical con una  $p<0.05$ , lo que nos habla que no son mutuamente independientes. Las concentraciones de cortisol en sangre materna  $\bar{X}$  400.38 ng/ml fueron mayores que las concentraciones de cortisol en sangre de cordón  $\bar{X}$  276.66 ng/ml, coincidiendo con lo reportado por Migeon y otros autores <sup>(63)</sup>. La razón es una transferencia transplacentaria significativa de cortisol de la madre al feto siendo la mayor porción quizá 80% convertida a cortisona durante la transferencia transplacentaria <sup>(60)</sup>.

La fracción de cortisol materno que atraviesa la placenta y que no es convertida a cortisona tiene una significativa contribución al cortisol en plasma fetal, calculándose en 25 a 50% cerca del término, pero ésta contribución puede ser variable, particularmente por estar en relación a los cambios de concentración del plasma materno <sup>(60)</sup>.

Aún más, la ACTH fetal se deprime posterior a la infusión de ACTH dentro del compartimiento materno probablemente como resultado de la supresión de ACTH fetal por el elevado cortisol que ha sido derivado de la madre. El hecho de que esta y otras maniobras que elevan el cortisol materno y suprimen el ACTH fetal proveen una evidencia más de que los glucocorticoides pero no la ACTH pueden atravesar la placenta en cantidades fisiológicamente significativas<sup>(60)</sup>.

Probablemente la glándula fetal adrenal secreta cortisol activamente y su función secretora depende de la estimulación pituitaria fetal, el sistema feedback parece ser operacional al final del embarazo y la contribución fetal de cortisol al plasma fetal al término ha sido estimado en cerca del 50 al 70%<sup>(60,64)</sup>. En contraste con la madre las concentraciones en plasma de cortisona en el feto son mucho mayores que las de cortisol, por lo tanto, la cortisona es derivada del metabolismo del cortisol materno que atraviesa la placenta y del metabolismo del cortisol en la circulación fetal<sup>(60)</sup>. Mientras el cortisol en sangre fetal ha sido observado que aumenta en asociación con el aumento de cortisol en plasma durante el T de P<sup>(60)</sup>. En el presente no hay una evidencia directa de que el ACTH del plasma fetal o el cortisol estén alterados en respuesta a un presumible estrés fetal<sup>(60,64)</sup>. Sin embargo los niveles de cortisol en plasma fetal están también influenciados por otros factores, por ejemplo, edad gestacional, paridad materna y T de P. Pero a pesar de que en algunos estudios previos las concentraciones de cortisol en sangre de cordón han sido encontradas más altas en un T de P espontáneo que después de un T de P inducido, no ha sido posible determinar si este aumento en los niveles de cortisol precede al inicio del T de P o es consecuencia del T de P<sup>(64)</sup>.

Aún más, los aumentos del cortisol tienen lugar en la primera parte del T de P<sup>(64)</sup>, por lo tanto la evidencia sugiere que el T de P por se puede aumentar los niveles de cortisol en sangre de cordón<sup>(64)</sup>.

La concentración de cortisol en LA durante el T de P reporta una correlación lineal con los niveles de cortisol  $r=0.831$  en sangre de cordón con una  $p<0.005$  y con sangre materna  $r=0.838$  con una  $p<0.005$  (Gráfica 2.1.3), lo que demuestra que no son mutuamente independientes.

Apoyando lo descrito por Tulchinsky<sup>(60)</sup> de que no solamente una importante contribución materna es hecha a los glucocorticoides fetales sino al LA y que la síntesis adrenal de glucocorticoides ocurre en el feto normal (65). Los valores de cortisol más bajos en los tres compartimientos

los encontramos en LA  $\bar{X}$  184.04 ng/ml, y los más altos en sangre materna  $\bar{X}$  400.38 ng/ml con una diferencia entre éste último y el cortisol en sangre de cordón ( $\bar{X}$  276.66 ng/ml) de un 30% que hablaría de sitios de producción diferentes, pero intercomunicados y regulados bajo un estímulo (T de P), no olvidando que en cada uno de estos compartimentos se encuentran elementos particulares que los modifican, por ejemplo, en la madre los valores de ACTH, en el feto la transferencia transplacentaria y en LA el contacto con los tejidos que lo metabolizan, como lo describieron Fasquini y asociados al identificar la activa reducción del cortisol a cortisona que ocurre en muchos tejidos fetales incluyendo el pulmón fetal<sup>(60)</sup>, Murphy<sup>(60)</sup> y asociados al mostrar una significativa conversión de cortisona a cortisol por las membranas fetales y Smith al observar una similar conversión de cortisona a cortisol en pulmón fetal humano<sup>(60)</sup>.

Las diferencias de los valores reportados en nuestros resultados y otros autores está probablemente determinado por variaciones circadianas en su secreción ya que nuestras muestras fueron tomadas durante el T de P espontáneo y la mayoría de las veces durante la noche.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS.

### 5. HORMONALES.

#### 5.2 INSULINA

##### 5.2.1. INSULINA EN LIQUIDO AMNIOTICO.

Casper y Benjamin<sup>(60)</sup> fueron los primeros en reportar la insulina reactiva en LA, enunciando que la concentración aumenta de niveles no detectables antes de la semana 16 de la gestación a valores  $\bar{X}$  de 11.3  $\mu$ u/ml al término. Observaciones similares fueron subsecuentemente reportadas por otros investigadores.

Hay pocos reportes de los niveles de insulina en LA. Los rangos reportados van de 2 a 30  $\mu$ u/ml con grandes variaciones, probablemente condicionados fisiológicamente<sup>(70)</sup>.

Weiss y col.<sup>(70)</sup> en una muestra de 458 pacientes embarazadas normales estudiando los niveles de insulina en LA entre las 27 y 42 semanas de gestación reportan los siguientes resultados :

"NIVELES DE INSULINA EN LA ( $\mu\text{U/ml}$ )"

SEMANA	N	$\bar{X}$	D.S	RANGO	PERCENTILAS				
					5	10	50	90	97
33-34	86	6.7	3.4	0.3-14.4	1.9	3.0	6.3	11.7	12.8
35-36	88	6.9	3.7	1.2-15.5	1.3	2.9	6.4	11.8	13.5
37-38	70	7.0	3.9	1-20	1.5	2.8	6.6	12.2	14.9
39-40	60	7.3	4.4	1-20	1.2	2.8	6.8	13.4	17.2

A la semana 34 reportamos concentraciones  $\bar{X}$  de insulina en LA 3.35  $\mu\text{U/ml}$  y a la semana 37 de 4.18  $\mu\text{U/ml}$  (Gráfica 2.2.1) no encontrando correlación lineal  $r=0.054$  significativa  $p<0.708$  con la edad gestacional, lo que demuestra que son mutuamente independientes y que coincide con lo ya reportado.

Al parecer la presencia de insulina en LA corresponde a la iniciación de su síntesis por el páncreas fetal humano <sup>(60)</sup>, la insulina feto materna no atraviesa la placenta, porque los cambios en los niveles de insulina en LA corresponden a los cambios en la concentración en sangre y orina fetal <sup>(60,70)</sup>, explicando así la no correlación entre la insulina en suero materno con la insulina en LA. Reportamos valores  $\bar{X}$  de 2.95  $\mu\text{U/ml}$  de insulina en LA durante el T de P, valor por debajo de los encontrados a las 34 y 37 semanas (Gráfica 2.2.3). Tal vez esto como consecuencia del compromiso fetal durante el T de P como sucede en la preeclampsia, insuficiencia placentaria, retardo en el crecimiento fetal y malformaciones, en donde los niveles de insulina en LA son reducidos <sup>(70)</sup>. O también debido a la falta de estimulación de las células de los islotes fetales como resultado de bajas concentraciones de glucosa <sup>(70)</sup> o porque el páncreas fetal de sujetos metabólicamente sanos exhibe solamente respuestas limitadas a los cambios agudos de los niveles de glucosa intrauterina.

No encontramos ninguna correlación lineal con los fosfolípidos ni con el resto de las hormonas, lo que no descarta su posible participación en la producción de surfactante pulmonar a través de mecanismos indirectos mediados a través del sustrato o inducidos por efecto directo a través de otras hormonas.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS.

### 5. HORMONALES.

#### 5.2. INSULINA.

##### 5.2.2. INSULINA EN SANGRE MATERNA.

Se reporta que los niveles basales de insulina en sangre materna son bajos o no se observan en el embarazo temprano, pero en la segunda mitad del embarazo son mayores con rangos de 6 a 9  $\mu\text{u/ml}$  <sup>(60)</sup>, los hijos de madres diabéticas tienen una alta incidencia de SDR en comparación con los hijos de madres normales, lo cual ha sido sugerido sea consecuencia de la hiperglicemia, apoyado por estudios en modelos animales en donde fetos hiperglicémicos pero hipoinsulinémicos sugieren que el retraso en la maduración pulmonar en niños de madres diabéticas es debido a hiperglicemia <sup>(37)</sup>. Por otro lado la hiperinsulinemia en presencia de hipoglicemia redujo la cantidad de surfactante en líquido traqueal de feto de oveja cateterizado crónicamente, pero la infusión de glucosa también tiene el mismo efecto al inhibir la respuesta de maduración del pulmón fetal al cortisol <sup>(1)</sup> por lo que un rol para la insulina en el retraso de la maduración en niños de madres diabéticas no puede sin embargo ser una regla.

Encontramos (Gráfica 2.2.2) niveles más altos de insulina en suero materno a la semana 34 con una  $\bar{X}$  de 27.86  $\mu\text{u/ml}$ , que a la semana 37 de 22.29  $\mu\text{u/ml}$ , y en el T de P de 13.39  $\mu\text{u/ml}$  con correlación lineal  $r=0.369$  significativa con la edad gestacional con una  $p<0.01$ , que se explicaría probablemente por el aumento de actividad de degradación de la placenta <sup>(69)</sup> y de otros órganos tales como el músculo, riñón, hígado, en donde se degrada la mayor fracción de insulina circulante. No encontramos correlación lineal significativa con ninguno de los fosfolípidos pulmonares ni con el resto de los hormonales, lo que no descarta su posible participación indirecta en la producción de surfactante.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS.

### 5. HORMONALES.

#### 5.2 INSULINA.

##### 5.2.3. INSULINA EN EL TRABAJO DE PARTO.

En el feto los niveles de insulina se detectan tan tempranamente como a los 84 días y permanecen de 1 a 30  $\mu\text{u/ml}$  con  $\bar{X}$  de  $8 \pm 1.5 \mu\text{u/ml}$  hasta el término<sup>(73)</sup>.

La insulina fetal no cambia al término de la gestación con la hiperglicemia fetal obtenida por la inyección de glucosa a la madre<sup>(73)</sup>, lo que demuestra una respuesta limitada del páncreas fetal a los cambios agudos en los niveles de glucosa intrauterina.

La placenta es impermeable a la insulina materno fetal<sup>(60)</sup>, por lo tanto las concentraciones de insulina fetal son producto de la secreción pancreática fetal y de la maduración de los mecanismos de liberación.

Se ha reportado que la insulina puede jugar un importante rol en el desarrollo de la madurez fetal pulmonar. Bistrítzer y col. sugieren que las concentraciones de insulina en sangre de cordón pueden ser un indicador en la predicción del desarrollo del SDR, más aún de su severidad<sup>(69)</sup>, ya que la insulina ejerce un efecto inhibitorio en la maduración pulmonar<sup>(69)</sup>, apoyado esto también por criterios morfológicos<sup>(36,37)</sup>, físicos<sup>(36)</sup> y bioquímicos<sup>(36)</sup>, pero a pesar de que en algunos estudios el feto de animales diabéticos (fue hiperglicémico e hiperinsulinémico<sup>(26,39)</sup>, en otros el feto fue hiperglicémico pero no hiperinsulinémico<sup>(26,37,38)</sup>. Los fetos de animales diabéticos también tienden a ser de peso menor que los animales control<sup>(36,37,39)</sup>, mientras que los fetos humanos de madres diabéticas tienden a ser mayores para su edad gestacional, por lo que los modelos animales sin embargo no son necesariamente réplicas exactas de los desórdenes humanos.

La incidencia de SDR en infantes de madres diabéticas es significativamente mayor que el observado en controles en peso y edad iguales<sup>(69)</sup>. Por lo que la hiperinsulinemia puede ser un importante factor en el desarrollo del SDR.

Bistrítzer<sup>(69)</sup> reporta en sangre de cordón de 14 RN con SDR, hijos de madres diabéticas concentraciones medias de insulina significativamente

mayores que los observados en infantes de madres sanas ( $22.3 \pm 3.7 \mu\text{u/ml}$  y  $8.5 \pm 3.6 \mu\text{u/ml}$  respectivamente  $p < 0.01$ ).

En sangre de cordón en RN sanos Tulchinsky <sup>(60)</sup> reporta valores de  $10 \mu\text{u/ml}$  o menos, y otros autores <sup>(73)</sup> rangos de 6 a  $16 \mu\text{u/ml}$ .

En la Gráfica 2.2.3 reportamos concentraciones  $\bar{X}$  en sangre de cordón de  $7.26 \mu\text{u/ml}$ , en sangre materna valores  $\bar{X}$  de  $12.43 \mu\text{u/ml}$  y en LA  $\bar{X}$  de  $2.95 \mu\text{u/ml}$ , no encontrando correlación lineal significativa entre ellas como era lo esperado, ya que el hallazgo de la no correlación lineal entre la insulina en sangre materna y sangre de cordón umbilical habla de sitios de producción independiente y de la autonomía de sus mecanismos de control como ya fue anteriormente señalado.

Sin embargo la no correlación entre la insulina en sangre de cordón umbilical y la insulina en LA sugiere la existencia de mecanismos de regulación diferentes o la influencia de las membranas ovulares en el proceso de aclaramiento.

La no correlación de insulina con los fosfolípidos pulmonares y hormonales, no descarta su posible participación indirecta en el proceso de maduración pulmonar, ya que altos niveles de insulina en LA han sido asociados con síntesis reducida de lecitina, además de que también puede inhibir la respuesta de maduración del pulmón fetal al cortisol <sup>(1)</sup>. Sin embargo, si los valores de insulina se correlacionan con la severidad del SDR, queda aún también por determinarse.

## **ANÁLISIS DE RESULTADOS.**

### **5. HORMONALES.**

#### **5.3 PROLACTINA.**

##### **5.3.1. PROLACTINA EN LIQUIDO AMNIOTICO.**

El origen de la prolactina en LA no es conocido <sup>(60)</sup>. El LA contiene una gran variedad de isohormonas de prolactina <sup>(60)</sup> las cuales diferencian heterogénicamente de la prolactina materna y de la prolactina fetal <sup>(60)</sup>.

La prolactina en LA recientemente fue mostrada distinta de la hormona del crecimiento y es muy similar biológicamente, inmunológicamente y electroforéticamente a la prolactina pituitaria humana purificada <sup>(60)</sup>. Ha sido purificada y encontrada biológicamente activa e indistinguible de la prolactina pituitaria fetal <sup>(60)</sup>.

Las fuentes de prolactina en LA son inciertas, y parece ser primariamente de origen decidual o coriónico, y es improbable que contribuya a los niveles de prolactina en suero materno <sup>(60)</sup>.

Consecuentemente el origen de prolactina en LA permanece no claro y existen evidencias contradictorias en favor del origen fetal, materno, decidual o placentario <sup>(60)</sup>.

Las concentraciones en LA de prolactina son bajas antes de las 10 a 12 semanas de gestación, se incrementa a niveles pico rápidamente entre las 15 y 20 semanas para declinar gradualmente en el último trimestre a valores de 450 ng/ml <sup>(60)</sup>.

Reportamos en la Gráfica 2.3.1 a la semana 34 valores  $\bar{X}$  de 161.76 ng/ml, a la semana 37 valores  $\bar{X}$  de 167.37 ng/ml, y durante el T de P valores promedio de 134.21 ng/ml. No encontramos correlación con la edad gestacional ni con los fosfolípidos pulmonares.

Como también lo describió Hatjis y col. <sup>(86)</sup> al no poder demostrar correlación entre la prolactina y el índice L/E en LA lo cual fue explicado en base a que la mayoría de los casos, 85%, fueron analizados después de las 35 semanas de gestación cuando los valores de prolactina en LA están disminuidos y los valores de L/E están aumentados, lo cual no excluía la posibilidad de que la observada madurez del índice L/E en LA fuera inducida por las concentraciones de prolactina en LA presentes antes de las 35 semanas. Johnson y col. <sup>(85)</sup> trabajando con monos rhesus no encuentran correlación entre la prolactina en LA y el surfactante pulmonar, pero circunstancialmente los datos in vitro soportan esta hipótesis.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS.

### 5. HORMONALES.

#### 5.3. PROLACTINA.

##### 5.3.2. PROLACTINA EN SANGRE MATERNA.

Hwang, Guyda y Friesen <sup>(60)</sup> fueron los primeros en medir específicamente la prolactina humana con el desarrollo del radio inmunoensayo.

Durante el embarazo, la adenohipófisis incrementa en tamaño y contiene un tipo de células específicas, raramente encontradas en infantes, hombres y pobremente desarrollados en la mujer no embarazada, éstas células llamadas células del embarazo de prolactina o lactotrofos produ-

cen la mayor parte si no toda la prolactina materna <sup>(71)</sup>, por lo que el incremento en el número de lactotrofos es evidente a partir del tercer mes del embarazo, lo cual se asocia a un aumento de prolactina a partir de la 5a. a 8a. semana, incremento que se continúa a través del embarazo, alcanzando sus niveles máximos al término de la gestación.

Los niveles de prolactina materna varían considerablemente de paciente a paciente <sup>(71)</sup>, reportando a la semana 32 valores  $\bar{X}$  de 120 ng/ml con rangos de 10 a 240 ng/ml, a la semana 36 valores  $\bar{X}$  de 140 ng/ml con rangos de 20 a 250 ng/ml, y a las 37 semanas valores  $\bar{X}$  de 200 ng/ml con grandes variaciones que van de 40 a 600 ng/ml <sup>(72)</sup>.

En la Gráfica 2.3.2 valores  $\bar{X}$  a la semana 34 de 156.48 ng/ml, a la semana 37 de 122.87 ng/ml y durante el T de P de 131.79 ng/ml con rangos de 90 hasta 240 ng/ml.

Algunos investigadores reportan que durante toda la gestación el ritmo circadiano de secreción de prolactina mantiene su ciclo vigilia-sueño normal <sup>(60)</sup>, semejante al ritmo de la mujer no embarazada, con episodios secretores en mayor cantidad por la noche, con una vida media de 15 a 20 minutos, lo que explica parte de las fluctuaciones registradas por los diferentes investigadores.

No encontramos correlación significativa de la prolactina en Sm con la prolactina en LA como también ya había sido propuesto por otros autores <sup>(60,11,14,67)</sup>, permitiéndonos señalar orígenes independientes, y como fuente de prolactina en LA probablemente la decidua <sup>(60)</sup>, siendo improbable que esta fuente contribuya a los niveles de prolactina en suero materno <sup>(60)</sup>.

Encontramos correlación lineal negativa  $r=-0.353$  de la Prolactina en suero materno con la Insulina en suero materno con una  $p<0.05$  pero no encontramos correlación de estas con los fosfolípidos pulmonares, lo que nos hace suponer que no intervienen directamente en el proceso de maduración pulmonar, pero no descarta su participación indirecta como ha sido sugerida por estudios en cultivo de tejidos de trasplantes de pulmón fetal humano <sup>(30)</sup> en donde la insulina unida al cortisol y prolactina estimulan la síntesis de fosfolípidos.

## ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 5. HORMONALES.

#### 5.3. PROLACTINA

##### 5.3.3. PROLACTINA EN EL TRABAJO DE PARTO.

Durante el embarazo normal, los niveles de prolactina en LA alcanzan los niveles más altos en comparación a la sangre materna y sangre de cordón umbilical<sup>(74)</sup>. Los niveles de prolactina fetal y materno varían considerablemente a través de la gestación, pero al término no difieren significativamente entre el embarazo normal y anormal<sup>(74)</sup>.

Hay una pobre correlación existente entre la prolactina en LA y la prolactina fetal y materna<sup>(60)</sup>, como lo reportamos en la Gráfica 2.3.3. Otros autores señalan sin embargo que las concentraciones de prolactina en sangre de cordón umbilical son similares a los niveles maternos al término<sup>(72)</sup>, sin embargo otros investigadores<sup>(88)</sup> reportan concentraciones  $\bar{X}$  de  $167.8 \pm 14.2$  ng/ml en vena umbilical con rango 50-422 ng/ml significativamente mayores  $p < 0.004$  que en plasma materno donde reportan  $\bar{X}$   $111.8 \pm 12.3$  ng/ml con rangos de 26-410 ng/ml.

Por lo tanto, la no correlación de prolactina entre los 3 compartimientos con los fosfolípidos pulmonares ni con los hormonales, señala que ambos procesos son mutuamente independientes<sup>(60)</sup>.

Pero por otro lado, los niveles de prolactina en suero fetal aumentan marcadamente antes de aparecer el surfactante pulmonar<sup>(76)</sup>, lo cual nos lleva a suponer que la correlación manifiesta por otros autores en neonatos prematuros existe en base a la edad gestacional (menos de 34 semanas) y no a la madurez pulmonar.

Hauth J.<sup>(77)</sup> y col. describen que los niveles de prolactina en sangre de cordón varían significativamente con el peso del RN (variable que nosotros no controlamos) y agrega también que valores de prolactina menores de 200 ng/ml en sangre de cordón se acompañan más frecuentemente de desarrollo del SDR, premisa que en nuestro estudio no se cumplió ya que reportamos una  $\bar{X}$  en sangre de cordón al nacimiento de 111.86 ng/ml con rangos de 30 a 190 ng/ml, no presentando ninguno (N=14) de nuestros RN estudiados SDR.

Se propone que los niveles de prolactina en sangre materna declinan durante el T de P como consecuencia de una disminución de la vida me-

dia de la prolactina <sup>(60)</sup>. Algunos autores no reportan cambios significativos en la prolactina en suero durante el Trabajo de Parto <sup>(71)</sup>, sin embargo otros encuentran una disminución que alcanza sus niveles menores pocas horas antes del parto, y su nadir es seguido por un lento incremento, siendo la magnitud de su caída independiente de la duración del parto, así como de la medicación o de la anestesia <sup>(71)</sup>.

Por lo tanto la no correlación lineal con los fosforilidos pulmonares y los hormonales; como también había sido reportado por otros autores <sup>(60,71)</sup>, no descartan su posible participación en forma indirecta en el proceso de maduración pulmonar.

## **ANÁLISIS DE RESULTADOS.**

### **5. HORMONALES.**

#### **5.4 TIROTROPINA (TSH).**

##### **5.4.1. TIROTROPINA EN LIQUIDO AMNIOTICO.**

La TSH en LA se eleva hasta valores de 2.6  $\mu\text{u/ml}$  al principio del embarazo para disminuir posteriormente hasta valores no detectables desde la semana 35 a 36 de la gestación <sup>(78)</sup>. Chopra y Crandall refieren que la TSH a pesar de que frecuentemente se halla en suero fetal después de las 20 semanas de gestación no fue detectable en LA a través del embarazo <sup>(60)</sup>.

Fonseca y Zarate <sup>(78)</sup> describen en el embarazo de alto riesgo (diabetes, toxemia, isoimmunización, malformaciones, etc.) que los niveles de TSH en LA no son detectables en el 93.2% de los LA con datos de madurez pulmonar y detectables solamente en el 6.6% de los LA de los productos que presentaron SDR y en el resto, 33.3%, los valores son no detectables como lo observado en los productos que tuvieron madurez pulmonar, lo que podría indicar que la TSH no participa de manera importante en la madurez pulmonar ya que los resultados parecen reflejar la madurez pulmonar esperada en función de la edad gestacional de los productos.

Reportamos rangos del TSH en LA (Gráfica 2.4.1) de 0.5 a 2.70  $\mu\text{u/ml}$  con valores  $\bar{X}$  de 1.33  $\mu\text{u/ml}$  durante el tercer trimestre de la gestación. Con diferencia no significativa en sus valores a la semana 37 y el T de P, lo que probablemente estuvo determinado por los cambios en los niveles de TSH en sangre de cordón que aumentan discretamente dos o tres días antes del T de P, no encontramos correlación lineal con la edad gestacio-

nal, lo que habla que son mutuamente independientes siendo los valores reportados de TSH coincidentes con las etapas de maduración hipotalámica fetal<sup>(82)</sup>. Los niveles de TSH en suero fetal alcanzan sus niveles pico en el tercer trimestre se mantienen relativamente sin cambios hasta el término, siendo manifiesto en los resultados de la Gráfica 2.4.1. No encontramos correlación lineal con la TSH materna, que apoya que el sistema se desarrolla libre de influencia materna, dejando evidencia de la impermeabilidad de la placenta a la TSH.

No encontramos correlación lineal alguna con los fosfolípidos pulmonares, lo cual era esperado ya que el SDR se ha asociado a bajos niveles de hormonas tiroideas, sin embargo, la ausencia de modificaciones en las concentraciones de TSH en líquido amniótico en relación a la madurez pulmonar no descarta su posible participación indirecta en la producción de surfactante pulmonar.

Encontramos correlación lineal negativa de TSH en LA con el cortisol en sangre materna  $p < 0.02$  que contrasta con lo reportado en la mujer no embarazada en donde la administración de grandes dosis de corticoides causa una reducción en plasma de los niveles de TSH<sup>(60)</sup>.

El cortisol materno puede atravesar la placenta<sup>(60)</sup>, por lo que adquiere relevancia la correlación lineal negativa de TSH en LA descrita. Para probar si ésta tiene o no un efecto sobre la madurez pulmonar, se requiere de un mayor número de investigaciones, ya que la no correlación de la TSH en LA con los fosfolípidos pulmonares, habla probablemente de que ésta correlación sea consecuencia de la edad gestacional.

## **ANÁLISIS DE RESULTADOS.**

### **5. HORMONALES.**

#### **5.4. TIROTROPINA (TSH)**

##### **5.4.2. TIROTROPINA EN SANGRE MATERNA.**

Durante el embarazo la ausencia de cambios importantes en la concentración en suero materno de hormonas tiroideas libres sugieren que la relación fundamental pituitaria tiroidea permanece intacta. Sin embargo, alteraciones menores en el control de la regulación central del tiroideo pueden existir<sup>(60)</sup>.

Algunos investigadores han mostrado que los niveles medios de TSH y hormonas tiroideas libres aumentan modestamente en el embarazo <sup>(60)</sup>. Otros, sin embargo reportan que los niveles de TSH en suero no cambian a través del embarazo <sup>(60)</sup>. Aún más, Harada y asociados han reportado un modesto aumento en los niveles de hormona tiroidea al final del primer trimestre asociado con una modesta reducción temporal de la secreción de TSH pituitario <sup>(60)</sup>.

La TSH en plasma en mujeres normales y embarazadas en el tercer trimestre se ha reportado en rangos de 1 a 5.5  $\mu\text{u/ml}$  <sup>(60)</sup>, que coincide con lo reportado en la Gráfica 2.4.2 donde obtuvimos valores  $\bar{X}$  de 3.06  $\mu\text{u/ml}$  a las 34 semanas, de 2.37  $\mu\text{u/ml}$  a las semanas 37 y 2.86  $\mu\text{u/ml}$  en el Trabajo de Parto, no encontrado correlación lineal con la edad gestacional, lo cual había sido sugerido por Harada y asociados.

## **ANÁLISIS DE RESULTADOS.**

### **5. HORMONALES.**

#### **5.4. TIROTROPINA (TSH).**

##### **5.4.3. TIROTROPINA EN EL TRABAJO DE PARTO.**

Se ha reportado que el RN con SDR muestra en sangre de cordón valores de TSH de  $15 \pm 1.9 \mu\text{u/ml}$  que contrasta con los valores de  $12.3 \pm 1.4 \mu\text{u/ml}$  encontrados en los niños sin SDR, no siendo esta una diferencia significativa <sup>(81)</sup>.

Las hormonas tiroideas son relativamente bajas en sangre fetal durante la vida intrauterina y al final se incrementan como progresa la gestación. Lo cual explicaría parcialmente el porqué las concentraciones de hormona tiroidea en sangre de cordón son significativamente menores en infantes prematuros que subsiguientemente desarrollaron SDR <sup>(81)</sup>.

Por tanto la elevada concentración de tirotropina en cordón umbilical en el RN con SDR evidencia las bajas concentraciones de hormonas tiroideas y su importancia fisiológica de la respuesta hipotalámica <sup>(81)</sup>. La exposición del feto al desarrollo extrauterino resulta en una liberación aguda de TSH pituitaria que estimula la producción tiroidea y liberación de la hormona, alcanzando su concentración pico a los 30' posteriores al nacimiento, incrementando a las 4 hrs. de nacido en el infante a término, alcanzando la  $T_3$  hasta 6 veces su valor <sup>(82)</sup>.

Los valores de TSH reportados en cordón arterial del RN son:  $3.7 \pm 2.7$   $\mu\text{u/ml}$  <sup>(60)</sup>. Contrasta con los valores  $\bar{X}$  de 4.6 con rangos de 3 a 7.4  $\mu\text{u/ml}$  que reportamos en la Gráfica 2.4.3. Sin embargo Robin y Fisher <sup>(79)</sup> encontraron un incremento de TSH en suero de cordón comparado al de la sangre materna, fenómeno que no fue observado por Sierbock y Nielsen al no encontrar diferencia <sup>(79)</sup> ni por nosotros (Gráfica 2.4.3).

La TSH materna aparentemente no atraviesa la placenta <sup>(60)</sup> por lo que el sistema fetal hipotálamo-pituitaria-tiroides se desvincula libre de la influencia materna como también es sugerido por la ausencia de correlación lineal  $r=0.028$  con  $p<0.846$  entre la TSH materna y la TSH de cordón umbilical (Gráfica 2.4.3).

La placenta es impermeable a  $T_4$ ,  $T_3$ , y  $T_{3r}$ , así como a la TSH pero a pesar de que la TRH hipotalámica puede cruzar la placenta, no hay evidencia de que la TRH materna bajo circunstancias normales influya en la función pituitaria tiroidea fetal <sup>(60)</sup>.

Hay correlación lineal  $r=0.738$  entre la TSH en LA con la TSH en SF  $p<0.02$ , lo que habla de que son producto de una fuente común coincidente con la correlación de TSH en LA con la etapa de maduración hipotalámica fetal (Fase II).

Existe una correlación lineal negativa  $r=-0.636$  de la TSH en LA con la  $T_{3r}$  en SF con una  $p<0.05$ . Evento que no se correlacionó con la madurez pulmonar en base a la ausencia de correlación con los fosfolípidos pulmonares pero probablemente describe los cambios fisiológicos hormonales característicos de la edad gestacional y del Trabajo de Parto.

## **ANÁLISIS DE RESULTADOS.**

### **5. HORMONALES.**

#### **5.5. HORMONAS TIROIDEAS ( $T_4$ - $T_3$ - $T_{3r}$ ).**

##### **5.5.1. HORMONAS TIROIDEAS EN LIQUIDO AMNIOTICO**

Las hormonas tiroideas en los compartimientos vasculares son derivadas de la secreción tiroidea y del metabolismo de la tiroxina en los tejidos periféricos. La tiroxina es derivada exclusivamente de la síntesis y secreción de la glándula tiroides. La  $T_3$  y la  $T_{3r}$  en contraste son producidas en gran proporción en los tejidos periféricos vía la deionización de  $T_4$  <sup>(60)</sup>, y sólo pequeñas cantidades de  $T_3$  y  $T_{3r}$  son secretadas de la glándula tiroi-

des, tal vez 10 a 20% y menos de 5% respectivamente <sup>(60)</sup>. Las hormonas tiroideas son sometidas a transformaciones de varios tipos en los tejidos, esto incluye deiodinización, cambios en el metabolismo de las cadenas y conjugación con sulfato y glucuronidos. La monodeiodinización secuencial de las yodotironinas inicia con la tiroxina y es el camino más importante en el metabolismo de las hormonas tiroideas. El primer paso involucra el quitar el átomo de yodo del anillo externo beta (hidroxilo) de la molécula  $T_4$  para formar  $T_3$ , o quitar el anillo interno alfa del átomo de yodo para formar la  $T_3r$ .  $T_3$  es la más activa yodotironina, tiene 3 a 4 veces la potencia metabólica de  $T_4$  cuando  $T_3$  es esencialmente inactiva. Pasos posteriores de monodeiodinización degradan secuencialmente la triyodotironina a diyodotironina y esta a monoyodotironina, y finalmente al esqueleto de tironina no yodada. La monodeiodinización inicial parece ser mediada por enzimas y probablemente involucra enzimas separadas. Una monodeiodinización para la conversión de  $T_4$  a  $T_3$  y otra para la conversión de  $T_4$  a  $T_3r$ . El anillo alfa monodeiodinado (de  $T_4$  a  $T_3r$ ) aparece tempranamente en el embarazo resultando en concentraciones de  $T_3r$  que exceden a las concentraciones de  $T_3$  varias veces. La placenta es impermeable a  $T_4$ ,  $T_3$ , y  $T_3r$ . <sup>(60)</sup>

Sack y col. <sup>(60)</sup> reporta no distinguible o en concentraciones menores de 15 ng/dl las concentraciones de  $T_3$  en LA, pero observa un significativo y progresivo aumento de  $T_4$  total en LA de una  $\bar{X}$  de 0.24  $\mu\text{g/dl}$  antes de las 20 semanas de gestación a 0.64  $\mu\text{g/dl}$  al término, pero a pesar de que las concentraciones totales de LA fueron menores que en suero fetal o materno la  $\bar{X}$  de  $T_4$  libre fue significativamente mayor en LA ya que en suero fetal y materno, hay bajas concentraciones de TBG en LA. Estos investigadores, aún más, concluyen que  $T_4$  aparece en el LA al mismo tiempo que aparece en suero fetal, observando una buena correlación entre  $T_4$  en LA y la edad gestacional, sin embargo ya que no hay correlación significativa entre el total de  $T_4$  libre en suero materno, fetal y LA, Fisher ha concluido que los niveles de  $T_4$  en LA son derivados de ambos compartimientos fetal y materno y aún más ha predicho que las mediciones de  $T_3$  y  $T_4$  en LA no reflejan credibilidad del estatus tiroideo fetal.

A las 15 semanas de gestación los niveles de  $T_3r$  en LA exceden grandemente a los niveles en suero materno y reflejan la producción de  $T_3r$  fetal <sup>(60)</sup>, más aún las concentraciones de  $T_3r$  son altas en suero de recién nacidos prematuros decreciendo progresivamente con la edad gestacional.

La concentración de T<sub>3r</sub> en LA reportada por otros autores <sup>(60)</sup> a la semana 35 es de 100 ng/dl y al término es de 60 ng/dl. No medimos las concentraciones de T<sub>4</sub> y T<sub>3</sub> en LA porque la sensibilidad del Kit de RIA de la T<sub>4</sub> Amerlex es de 0.60 a 25 µg/100 ml, y las concentraciones reportadas en la literatura refieren valores menores de 0.64 µg/dl al término de la gestación <sup>(60)</sup>, la sensibilidad del Kit de RIA de la T<sub>3</sub> Amerlex es de 0 a 230 ng/ml y las concentraciones reportadas en la literatura era de no distinguibles <sup>(60)</sup>, por lo tanto solo medimos T<sub>3r</sub> en LA. Reportamos (Gráfica 2.7 1) valores X de T<sub>3r</sub> a las 34 semanas de 106.44 ng/dl, a las 37 semanas de 64.08 µg/dl y durante el T de P de 46.61 ng/dl con una correlación lineal negativa  $r=-0.566$  con la edad gestacional con una  $p<0.0001$ , coincidiendo con lo reportado por otros investigadores <sup>(60)</sup>.

Las concentraciones de T<sub>3</sub> en suero de cordón fetal y LA son bajas a través de la gestación <sup>(60)</sup> incrementando progresivamente al término <sup>(60)</sup>. Entonces el metabolismo tiroideo fetal está caracterizado por un estado de deficiencia de T<sub>3</sub> presumiblemente debido a una inactividad en la monodeionización del anillo beta de la yodoionina, hasta cerca de las 30 semanas de gestación cuando el promedio de producción de T<sub>3</sub> parece aumentar a consecuencia de una mayor conversión de T<sub>4</sub> a T<sub>3</sub> por la monodeionización del anillo externo beta, por lo que las concentraciones de T<sub>3</sub> en LA aumentan progresivamente al término y las de T<sub>3</sub> en LA disminuyen.

La mayoría de las investigaciones concluyen que la T<sub>4</sub> aparece en líquido amniótico en cantidad y al mismo tiempo que en el suero fetal <sup>(60)</sup>, observando una buena correlación entre el contenido de T<sub>4</sub> en LA y la edad gestacional.

Hay correlación lineal negativa  $r=0.436$  de T<sub>3r</sub> en LA con el cortisol en LA con una  $p<0.05$ , correlación probablemente basada en la edad gestacional y no en relación a la madurez pulmonar como lo demuestra la no correlación con los fosfolípidos pulmonares.

La T<sub>3r</sub> en líquido amniótico es un metabolito no activo que refleja la producción de T<sub>3r</sub> fetal, característica determinada por la madurez enzimática, monodeionización del anillo alfa de la tiroxina que aparece tempranamente en el embarazo y que determina el aumento en las concentraciones de T<sub>3r</sub>.

Encontramos correlación lineal  $r=0.478$  de la  $T_{3r}$  en LA con la prolactina en LA, con una  $p<0.002$ , correlación no relacionada con la madurez pulmonar ni con la edad gestacional.. Difícil de interpretar funcionalmente en base al posible origen de la prolactina en LA y al rango de dispersión de los resultados por lo que requiere de una mayor investigación que nos permita poder darle una interpretación.

#### ANÁLISIS DE RESULTADOS.

##### 5. HORMONALES.

##### 5.5 HORMONAS TIROIDEAS ( $T_4$ - $T_3$ - $T_{3r}$ ).

##### 5.5.2. HORMONAS TIROIDEAS EN SANGRE MATERNA.

En la mujer eutiroides la mayoría de  $T_3$  y de la  $T_3$  son derivadas de la deionización periférica de  $T_4$  <sup>(60)</sup> y solamente pequeñas cantidades son secretadas por la tiroides <sup>(60)</sup>. Ambos  $T_3$  y  $T_{3r}$  pueden ser aún más mono-deionizados por tejidos periféricos produciendo  $3, 3'-T_2$  y  $3'-5'-T_2$  las cuales aún son metabolizadas. Sin embargo, todos estos metabolitos excepto  $T_3$  parecen ser biológicamente muy débiles o inertes <sup>(60)</sup>. A pesar de que no hay datos directos que reafirmen esta relación en la mujer embarazada, la  $T_3$  libre circulante y los promedios de  $T_4$  no tienen cambios y las concentraciones de  $T_{3r}$  aumentan en proporción a el aumento en  $T_3$  y  $T_4$  total <sup>(60)</sup>.

En sangre  $T_3$  y  $T_4$  circulantes se encuentran unidas principalmente a la globulina fijadora de tiroxina (TBG) y en menor cantidad a la prealbúmina fijadora de tiroxina (TBPA) y a la albúmina <sup>(60)</sup>.

El incremento en la concentración en plasma de TBG en el embarazo se anticipa a un incremento en las concentraciones totales de  $T_4$  y  $T_3$  (medidas por técnicas de competición de unión a proteína por radioinmunoensayo) así como al incremento en  $T_{3r}$  <sup>(60)</sup>, por tanto el aumento en los niveles circulantes de  $T_4$  es reflejado a través del aumento de yodo unido a proteína <sup>(60)</sup>.

En suma, la tiroxina ( $T_4$ ) permanece normal durante el embarazo, cuando son corregidos los cambios maternos por área de superficie, a pesar de que hay una fracción disminuida de hormonas tiroideas debido al aumento en TBG.

Durante el embarazo la ausencia de cambios conspicuos en las concentraciones de hormona tiroidea libre sugieren que la relación tiroidea pituitaria permanece intacta, sin embargo alteraciones menores en la regulación central del tiroides pueden existir. Algunos investigadores han mostrado que los niveles medios de la hormona estimulante del tiroides (TSH), así como de hormonas tiroideas libres (T<sub>4</sub>-T<sub>3</sub>) aumentan modestamente en el embarazo<sup>(60)</sup>, otros reportan sin embargo, que los niveles de TSH en suero no cambian durante el embarazo, aún más Harada y asociados han reportado un modesto aumento en los niveles de hormonas tiroideas libres al final del primer trimestre, los cuales fueron relacionados con una modesta reducción temporal en la secreción pituitaria de TSH<sup>(60)</sup>.

Los niveles de T<sub>4</sub> total en la mujer embarazada que se han reportado al término son en promedio de 13 µg/100 ml. con rango de 7 a 19 µg/100 ml, y las concentraciones de T<sub>3</sub> total en la mujer embarazada al término de 200 ng/100 ml. con rangos de 120 a 270 ng/100 ml.<sup>(60)</sup>

Nosotros encontramos los siguientes valores de hormonas tiroideas en sangre materna:

EMBARAZO	T <sub>4</sub>		T <sub>3</sub>		T <sub>3r</sub>	
	X	RANGO	X	RANGO	X	RANGO
34 semanas	15.40	10.8 - 21.5	150.59	110 - 195	36.71	24 - 72
37 semanas	11.81	4.8 - 17.5	118.16	85 - 180	29.37	21 - 52
T DE P.	14.04	8.8 - 19.5	132.86	25 - 190	27.82	21 - 46

No existiendo correlación de T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>, y T<sub>3r</sub> en sangre materna con la edad gestacional, ni diferencias significativas de sus valores en los diferentes grupos estudiados, como se presenta a continuación, lo que demuestra una vez más que las hormonas tiroideas permanecen sin cambios durante el embarazo.

HORMONAS TIROIDEAS	PERIODO			CORRELACION LINEAL	
	34 s.	37 s.	T de P	EDAD GESTACIONAL R	P
T4 mg/100 ml	15.4	11.83	14.04	0.092	0.545
T3 ng/100 ml	150.59	118.16	132.86	0.096	0.524
T3r ng/dl	36.71	29.37	27.82	0.082	0.595

Resultado que apoya la existencia de mecanismos de control o de producción independientes.

La ausencia de correlación lineal de T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> y T<sub>3r</sub> en sangre materna con los fosfolípidos pulmonares y la ausencia de correlación lineal con los fosfolípidos establecen probablemente que la participación de las hormonas tiroideas en el proceso de liberación o producción de surfactante pulmonar no es directo, pero la existencia de correlación lineal  $r=0.420$  con  $p<0.001$  de T<sub>4</sub> en sangre materna con cortisol en sangre materna pueden sugerir un efecto mediado o indirecto a través de otra hormona o ser producto de una correlación incidental como lo sugiere la correlación  $r=0.521$  de T<sub>3r</sub> en sangre materna con la insulina en sangre materna con una  $p<0.05$  lo cual quedaría aún por confirmar

#### ANALISIS DE RESULTADOS.

##### 5. HORMONAS.

##### 5.5. HORMONAS TIROIDEAS (T<sub>4</sub>-T<sub>3</sub>-T<sub>3r</sub>).

##### 5.5.3 HORMONAS TIROIDEAS EN EL TRABAJO DE PARTO.

La placenta de los mamíferos es impermeable a las iodotironinas naturales, T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> y T<sub>3r</sub>, así como a la TSH pituitaria<sup>(82)</sup>. A pesar de que la TRH hipotalámica puede cruzar la placenta cuando se da en dosis farmacológicas<sup>(82)</sup>, no hay evidencia de que la TRH materna bajo circunstancias normales influya en la función tiroidea pituitaria fetal<sup>(82)</sup>.

En el feto humano de término, la secreción de TSH puede ser inhibida por la administración de T<sub>4</sub> (82) como lo demostraron Klein y col. al reportar que la inyección intraamniótica de 700 µg de T<sub>4</sub> 24 horas antes de la cesárea electiva incrementa la medición en sangre de cordón de T<sub>4</sub> de

15.3 a 27.4  $\mu\text{g/dl}$  y reduce las concentraciones medias de TSH en sangre de cordón de 12 a 5.5  $\mu\text{U/ml}$  con solamente un mínimo incremento en las concentraciones de  $\text{T}_3$  en suero de cordón<sup>(82)</sup>.

En el feto humano la  $\text{T}_4$  total en suero y los niveles de  $\text{T}_4$  libre, se incrementan progresivamente durante el último trimestre aún cuando las concentraciones de TSH permanecen sin cambio. La  $\text{T}_3$  es esencialmente no medible en el feto humano antes de las 30 semanas de gestación para posteriormente incrementar a niveles  $\times$  de 50  $\text{ng/dl}$  al término y 3 a 6 veces más durante las primeras 4 a 6 hrs. de vida después del nacimiento<sup>(82)</sup>.

En el feto humano las concentraciones de  $\text{T}_3$  exceden los 250  $\text{ng/dl}$  al inicio del tercer trimestre para posteriormente decrecer constantemente al término<sup>(82)</sup>, permaneciendo esencialmente sin cambios en los infantes a término durante el periodo neonatal temprano y gradualmente caer a niveles característicos de la infancia durante la segunda semana de vida<sup>(82)</sup>.

La concentración de las diferentes hormonas tiroideas reportadas en la literatura son coincidentes con nuestros resultados. (Cuadro # 7)

INVESTIGADOR	$\text{T}_4$		$\text{T}_3$		$\text{T}_3\text{r}$	
	Cordón	Materno	Cordón	Materno	Cordón	Materno
Abuda (83)	10.1 $\pm$ 0.7	129	42 $\pm$ 3	161	151 $\pm$ 12	—
Chopra (84)	12.7 $\pm$ 0.8	8.6	24 $\pm$ 3	126 $\pm$ 3.2		41 $\pm$ 2
Lemarchand-Beraud (79)	12.3 $\pm$ 1.04	10.3 $\pm$ 0.7	—	—		—
Nosotros	7.95 $\pm$	14.04 $\pm$	24 $\pm$	132.66 $\pm$		27.82 $\pm$
INPer (80)	9 $\pm$ 2.5	—	—	—		—
Cusetas (81)	8.2 $\pm$ 0.3	—	31.9 $\pm$ 3.4	—		—

Un bajo promedio de conversión periférica de  $\text{T}_4$  a  $\text{T}_3$  ha sido propuesto como explicación para los bajos niveles fetales de  $\text{T}_3$ <sup>(81)</sup>, y esto debido a una conversión preferencial de  $\text{T}_4$  a  $\text{T}_3\text{r}$ . Posibilidad manifiesta por Chopra, Sack y Fisher quienes reportan altas concentraciones de  $\text{T}_3\text{r}$  en san-

grado de cordón en asociación con bajos niveles de  $T_3$ , que coinciden con lo que reportamos.

Por tanto, las concentraciones de hormonas tiroideas son relativamente bajas durante la vida intrauterina normal y tienden a incrementar conforme progresa la gestación<sup>(81)</sup>.

No encontramos correlación de las hormonas tiroideas  $T_4$ ,  $T_3$  y  $T_{3r}$ , en sangre materna contra las mismas hormonas en sangre de cordón, lo que establece que son independientes en su producción y control.

Existe correlación lineal  $r=0.843$  entre la  $T_{3r}$  en LA con la  $T_{3r}$  en suero fetal  $p < 0.005$  que sugiere el origen fetal de la  $T_{3r}$  en LA.

Reportamos concentraciones de  $T_4$  y  $T_3$  en sangre materna mayores que en sangre de cordón, no apoyando lo referido por Abuid de la no existencia de diferencias en la concentración de  $T_4$ , pero confirmando lo descrito por otros autores<sup>(83)</sup> con referencia al  $T_3$ .

Encontramos correlación lineal  $r=0.661$  de la  $T_4$  en sangre de cordón con la prolactina en suero de cordón  $p < 0.05$  no presentando correlación de estos con los fosfolípidos pulmonares, lo que descarta su posible participación directa en el proceso de maduración pulmonar.

No encontramos correlación lineal de la  $T_3$  en sangre de cordón con ningún hormonal ni con los fosfolípidos pulmonares, pero sí correlación lineal negativa  $r=-0.623$  de la  $T_3$  en SF con la prolactina en suero materno  $p < 0.25$ , lo que establece que son mutuamente independientes del proceso de maduración pulmonar.

Reportamos una mayor concentración de  $T_{3r}$  en sangre de cordón que en sangre materna, lo cual ya había sido descrito por Chopra, quien sugirió una mayor participación del tiroides fetal en la producción de  $T_{3r}$ , pero la ausencia de correlación de estos hormonales con los fosfolípidos pulmonares no descartan su posible participación en forma indirecta en el proceso de maduración pulmonar a través de otras hormonas.

## X. CONCLUSIONES.

Esta investigación agrega una evidencia más de la transferencia transplacentaria significativa de cortisol materno al cortisol en líquido amniótico, siendo este último el que recibe una mayor contribución de cortisol por la glándula fetal adrenal conforme progresa la gestación, observación que apoya la existencia de sitios de producción independientes, pero intercomunicados y regulados bajo diferentes estímulos, entre los que destaca el Trabajo de Parto.

La no correlación lineal del cortisol materno con la edad gestacional y con el surfactante pulmonar descartan su posible participación en forma directa en el proceso de maduración pulmonar fetal, pero no la descartan en forma indirecta a través de su contribución al cortisol total en líquido amniótico, lo que explica la condición clínica del porqué la administración de cortisol a la madre induce madurez pulmonar fetal.

El aumento de cortisol en líquido amniótico después de las 34 semanas de gestación y que continúa conforme progresa el embarazo es consecuencia del aumento de producción de cortisol por la glándula adrenal fetal, caracterizándose porque mantiene correlación lineal con la edad gestacional y el índice L/E, estableciendo la posible responsabilidad directa de la glándula fetal adrenal en la inducción del proceso de maduración pulmonar reflejado por el acúmulo de material surfactante (Índice L/E) en líquido amniótico.

Por lo que la correlación entre el valor de cortisol en LA y el índice L/E puede sugerir la iniciación de la maduración pulmonar fetal.

Pero no podemos argumentarlo como indicador con valor predictivo específico de madurez pulmonar como fue sugerido por Fencel y Tulchinsky, a consecuencia de que presenta una gran dispersión los valores de cortisol en líquido amniótico, como consecuencia de la presencia de elementos particulares que lo modifican en cada uno de los compartimientos que dan lugar a su origen. Por lo que el cortisol en LA no ofrece ventaja práctica alguna sobre el uso del índice L/E como valor predictivo para la determinación de madurez pulmonar fetal.

Más aún, si los corticoides en LA ejercen un efecto en la maduración pulmonar fetal vía su contacto directo en el pulmón fetal en desarrollo, en el presente no es conocido. Lo que parece, sin embargo, improbable,

es que el cortisol en líquido amniótico tenga un mayor efecto que el cortisol en suero fetal, ya que son relativamente más bajas las concentraciones de cortisol total en LA comparado con los de la circulación fetal.

Los cambios en los valores L/E en LA durante la gestación siguen los patrones de desarrollo anatómico, bioquímico y fisiológico del pulmón fetal, observando un incremento alrededor de la semana 34, y durante el T de P, por lo que: ¿Puede ser el T de P un factor importante en el desarrollo del surfactante pulmonar y en la presencia de SDR? o tal vez, el aumento de cortisol en LA durante el T de P y su correlación significativa con el índice L/E sean resultado de una relación incidental como consecuencia del estrés.

La ausencia de correlación de  $P_c$  con la edad gestacional y con el cortisol en LA y la no diferencia significativa de sus valores entre los diferentes grupos estudiados (semana 34-37 y T de P.) apoya la posibilidad de que los mecanismos reguladores de la madurez pulmonar tienden a mantener un valor estable de  $P_c$ , característico de madurez pulmonar en el embarazo normal después de la semana 34 de la gestación.

Aún más, la correlación de los diferentes fosfolípidos pulmonares apoya la existencia de mecanismos de regulación en la producción de  $P_c$  que adquiere importancia en el período de madurez pulmonar fetal como son: los mecanismos de síntesis de novo, en especial, la vía de metilación, ramificación y de translocación, con una participación probablemente muy discreta en la producción total de  $P_c$ , pero que funcionalmente manifiesta la existencia de mecanismos alternos de producción de fosfolípidos que adquieren relevancia en el pulmón en desarrollo, explicando así el porqué los mecanismos para las reacciones de interconversión metabólica pueden influir en la distribución de lípidos, sin proporcionar una síntesis neta de fosfolípidos, por lo que sin originar un aumento en la cantidad de surfactante pulmonar, permiten una mayor flexibilidad metabólica, aumentando el potencial celular para una rápida producción de fosfolípidos específicos, dando así oportunidad a que el organismo se adapte a situaciones de alarma, por lo que la correlación lineal de  $P_g$  con el CLA adquiere suma importancia, ya que probablemente esta determine la función del surfactante pulmonar en la estabilización alveolar, tanto por que  $P_g$  tiene una alta actividad de superficie, como por su efecto mediador descrito en cultivos de tejido, entre el cortisol y el aumento de actividad de la citidiltransferasa, principalmente en su porción

citoplasmática, la cual ha sido reportada aumentada varias veces solo si se encuentra también en presencia de Pg u otro fosfolípido ácido en la mezcla de ensayo.

Sin embargo, no debemos olvidar que la actividad de la citidiltransferasa en sí misma, puede ser regulada por un número de mecanismos que incluyen fosforilación, defosforilación, nivel de ácidos grasos y fosfolípidos, por lo que estudios posteriores serán necesarios para determinar si este mecanismo se aplica al caso del cortisol.

La presencia de insulina en LA corresponde a la iniciación de su síntesis por el páncreas fetal humano.

El nivel más alto de insulina en los tres compartimientos estudiados se encuentra en sangre materna, en donde se caracteriza por aumentar conforme progresa el embarazo y por mantener grandes variaciones probablemente condicionadas fisiológicamente. La placenta es impermeable a la insulina, por lo que los cambios en los niveles de insulina en LA corresponden a los cambios en su concentración en sangre y orina fetal. Por tanto la insulina se caracteriza por sitios de producción independientes y autonomía en sus mecanismos de control, pero bajo la influencia del aclaramiento metabólico de las membranas ovulares y el T de P.

No demostramos la participación directa de la insulina en LA, sangre materna y cordón umbilical en el proceso de maduración pulmonar, pero no descartamos su posible participación indirecta a través de otras hormonas o del sustrato en la mujer embarazada normal ya que en modelo animal, madres hiperglicémicas e hiperinsulinémicas con fetos hiperglicémicos e hiperinsulinémicos o hiperglicémicos pero no hiperinsulinémicos presentan retraso en la maduración pulmonar, lo que nos hace suponer que el retraso en la maduración de los niños de madres diabéticas puede ser debido a hiperglicemia y/o hiperinsulinemia dando oportunidad a la posibilidad de utilizar a la insulina en el embarazo anormal como indicador de predicción o severidad de SDR.

El origen de la prolactina en LA no es conocido, sin embargo, parece ser primariamente decidual o coriónico, por lo que la prolactina en LA, sangre materna y cordón umbilical tienen orígenes y mecanismos de control independientes. Las evidencias indirectas señalan impermeabilidad placentaria o transferencia limitada de prolactina siendo improbable

que los niveles en LA contribuyan a los niveles de prolactina en suero materno, los cuales varían considerablemente de paciente a paciente. La prolactina en LA tiene las concentraciones más altas de los tres compartimientos estudiados, caracterizándose por una gran variabilidad, evento que dificulta su posible utilidad como indicador de madurez pulmonar.

Después de la semana 34 de la gestación la no correlación de la prolactina en LA, sangre materna y sangre de cordón umbilical con los fosfolípidos pulmonares, nos hace suponer que no intervienen en el proceso de madurez pulmonar y que la concentración de prolactina baja reportada en sangre de cordón de RN prematuro con SDR por otros autores existe en base a la edad gestacional y no a la madurez pulmonar, lo que descarta su participación en forma directa, pero no en forma indirecta como ha sido sugerido en modelos animales y cultivos de tejidos.

Los valores de TSH en LA coinciden con las etapas de maduración hipotalámica fetal (30-34 semanas) y no se correlacionan con la TSH en sangre materna dando una evidencia más de la impermeabilidad placentaria; de orígenes diferentes y de que la función pituitaria tiroidea fetal se desarrolla libre de influencia materna.

Descartamos la posible participación directa de la TSH en LA, sangre materna y cordón umbilical en el proceso de maduración fetal pulmonar pero no así en forma indirecta, lo cual es apoyado por estudios bioquímicos, morfológicos, y en observaciones clínicas de RN prematuros que subsecuentemente desarrollaron SDR que sugiere junto con nuestros resultados, que los valores de TSH en LA y cordón umbilical están en función de la edad gestacional y de la respuesta hipotalámica fetal, más que con relación a la madurez pulmonar.

La correlación reportada entre el cortisol en sangre materna y la TSH en LA, establecen la posibilidad de un efecto indirecto, inhibitorio, discreto de TSH sobre el cortisol descrito también en la mujer no embarazada el cual adquiere relevancia al identificarlo como un evento fisiológico en el binomio madre-hijo, ya que probablemente el paso de cortisol materno a la circulación fetal con efecto indirecto en la producción hipotalámica fetal sea la explicación por la que algunos de los RN prematuros con SDR presentan TSH bajo, evento aún por demostrar, ya que ésta probablemente pueda ser producto de una relación incidental.

La mujer embarazada se caracteriza por un estado eutiroideo. Y en líquido amniótico la presencia de las hormonas tiroideas reflejan la función tiroidea fetal, observando concentraciones relativamente bajas durante la vida intrauterina normal y conservando la  $T_4$  una buena correlación con la edad gestacional. Aparece tempranamente en la gestación la monodeiodinización del anillo vívido de la  $T_4$  resultando en altas concentraciones de  $T_3$  en sangre de cordón y LA que exceden a las concentraciones de  $T_3$  varias veces, lo que provoca un estado de deficiencia de  $T_3$  presumiblemente por inactividad de la monodeiodinización del anillo vívido de la  $T_4$ , característica que persiste hasta cerca de la semana 30 de la gestación. cuando el promedio de  $T_3$  parece aumentar progresivamente al término y los de  $T_3$  disminuyen. La placenta es impermeable a las hormonas tiroideas naturales por lo que las hormonas tiroideas fetales y maternas son independientes en su producción y control y no guardan correlación con los fosfolípidos pulmonares.

Por lo que suponemos que las hormonas tiroideas no tienen una participación directa en el proceso de maduración pulmonar, como ha sido sugerido por los bajos niveles de hormonas tiroideas reportadas en sangre fetal y en asociación con el SDR, pero no podemos descartar un rol indirecto a través del sustrato u otra hormona.

Por lo que el efecto primario de síntesis de surfactante pulmonar descrito para las hormonas tiroideas y el cortisol en cultivo de tejidos requerirá de un mayor número de investigaciones.

Por tanto el cortisol en LA refleja de la producción adrenal fetal y del cortisol en suero materno es un buen indicador del inicio de proceso bioquímico de maduración pulmonar expresado por el acúmulo de material surfactante a través de la concentración del índice L/E en LA, que cuando se acompaña de la determinación de Pg se establece una mayor posibilidad de función del surfactante pulmonar en la estabilización alveolar, pero como la determinación hormonal de cortisol en LA presenta concentraciones con rangos muy amplios y gran dispersión no ofrece ventaja práctica alguna sobre la determinación del índice L/E tanto por su costo, sencillez y tiempo de realización al ser utilizados como indicadores predictivos de madurez pulmonar. Por lo que al determinarse el índice L/E junto con el Pg mejora notablemente la sensibilidad y especificidad de la prueba de madurez pulmonar fetal, ya que probablemente esta refleje el aumento del potencial celular para una rápida producción de fosfolípidos

fosfolípidos específicos, dando lugar así a que el organismo se adapte a situaciones de alarma.

Al mismo tiempo descartamos ventaja alguna a la determinación de prolactina, insulina, TSH y hormonas tiroideas en LA, sangre materna y cordón umbilical para señalar que se ha iniciado la madurez pulmonar.

## XI. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- SEAMUS A. Rooney. The Surfactant System and Lung Phospholipid Biochemistry. *Am. Rev. Respir. Dis.* 131:437-460, 1985.
- 2.- STAHLMAN M., Gray M. Desarrollo Anatómico y Maduración de los Pulmones. *Clinicas de Perinatología*. Edit. Interamericana 2:181-196, 1978.
- 3.- FARRELL P., Hamosh M. Bioquímica del desarrollo del pulmón fetal. *Clinicas de Perinatología*. Edit. Interamericana 2:197-229, 1978.
- 4.- VAN GOLDE L.M.G. Metabolism of phospholipids in the lung. *Am. Rev. Respir. Dis.* 111:657-688, 1975.
- 5.- EPSTEIN MF, Farrell PM. The choline incorporation pathway: Primary mechanism for the novo lecithin synthesis in fetal primate lung. *Pediatr. Res.*, 9:658-665, 1975.
- 6.- WAYNE W. Daniel. Biostatística. Base para el análisis de las Ciencias de la Salud. Edit. Limusa, Mex. 1984.
- 7.- TAEUSCH H.W. Jr., Clements J., Benson B. Exogenous surfactant for human lung disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 128:791-794, 1983.
- 8.- HALLMAN M., Gluck L. Formation of acidic phospholipids in rabbit lung during perinatal development. *Pediatr. Res.* 14:1250-1259, 1980.
- 9.- GARCIA A., Sener SF., Mario RD. Lung lamellar bodies lack certain key enzymes of phospholipid metabolism. *Lipids* 11:109-112, 1976.
- 10.- KIJLOVICH MV, Hallman M. Normal pregnancy. *AM. J. Obstet. Gynecol.* 135:57-63, 1973.
- 11.- GROSS I., Dyina DW., Wilson CM., Ingleson LD., Gewolb IH., Rooney SA. Glucocorticoid-Thyroid hormone interactions in fetal rat lung. *Pediatr. Res.* 18:191-196, 1984.
- 12.- SMITH BT., Groud CN., Robert M., Avery ME. Insulin antagonism of cortisol action on lecithin synthesis by cultured fetal lung cells. *J. Pediatr.* 87:953-955, 1975.
- 13.- GROSS I., Smith CJ, Wilson C. The influence of hormone on the biochemical development of fetal rat lung in organ culture II. Insulin. *Pediatr. Res.* 14:834-838, 1980.
- 14.- FARRELL PM., Zachman RD. Induction of choline phosphotransferase and lecithin synthesis in the fetal lung by corticosteroids. *Science* 179:297-298, 1973.

- 15.- FARRELL PM., Blackburn WR., Adams A., Lung phosphatidylcholine synthesis and choline phosphotransferase activity in anencephalic rat fetuses with corticosteroid deficiency. *Pediatr. Res.* 11:770-773,1977.
- 16.- HAMOSH M., Naghshineh S., Gal SG. and Hamosh P. Role of triglyceride fatty acid in lung phospholipid synthesis. *Am. Rev. Resp. Dis.* 115:335,1977.
- 17.- GROSS I. and Warshaw JB., Enzyme activities related to fatty acid synthesis in developing mammalian lung. *Pediatr. Res.* 8:193,1974.
- 18.- GILDEN C. Sevanian A., Tierney D. Regulation of fetal lung phosphatidylcholine synthesis by cortisol. Role of glycogen and glucose. *Pediatr. Res.* 11:845,1977.
- 19.- RHOADES RA. Net uptake of glucose, glycerol and fatty acids by the isolated perfused rat lung. *Am. J. Physiol.* 226:144,1974.
- 20.- GROSS I., Ballard P., Ballard R. Jones C., Wilson C. Corticosteroid stimulation of phosphatidylcholine synthesis in cultured fetal rabbit lung: evidence for de novo protein synthesis mediated by glucocorticoid receptors. *Endocrinology* 112:829-837,1983.
- 21.- BALLARD PL., Mason RJ., Douglas W. Glucocorticoid binding by isolated lung cells. *Endocrinology* 102:1570-1575,1978.
- 22.- GONZALEZ LW. Ballard PL., Nuclear 3,5,3',5'-Triiodothyronine receptors in rabbit lung: characterization and developmental changes. *Endocrinology* 111:542-552,1982.
- 23.- SMITH BT., Torrey J. Factors affecting lecithin synthesis by fetal lung cell in culture. *Pediatr. Res.* 8:848-851,1974.
- 24.- CUESTAS RA., Lindall A., Engel RR. Low thyroid hormones and respiratory distress syndrome of the new born. *Studies on cord blood.* *N. Engl. J. Med.* 295:297-302,1976.
- 25.- ERENBERG A. Rhodes ML. Weinstein M. Kennedy RL. The effects of fetal thyroidectomy on ovine fetal lung maturation. *Pediatr. Res.* 13:230-235,1979.
- 26.- ROONEY SA. Marino PA. Galvan LJ., Gross I., Warshaw JB. Thyrotropin releasing hormone increases the amount of surfactant in lung lavage from fetal rabbits. *Pediatr. Res.* 13:623-625,1979.
- 27.- COLLABORATIVE Group on antenatal steroid therapy. Effect of antenatal dexamethasone administration on the prevention of respiratory distress syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 141:276-286,1981.

- 28.- MASHIACH S, Barkal G., Sack J. Enhancement of fetal lung maturity by intra-amniotic administration of thyroid hormone. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 138:459-460,1978.
- 29.- HAUTH JC, Parker CR Jr., Mac Donald PC., Porter JC., Johnston JM. A role of fetal prolactin in lung maturation. *Obste.Gynecol* 51:31-38,1978.
- 30.- SNYDER JM., Longmair KJ., Johnston JM, Mendelson CR. Hormonal regulation of the synthesis of lamellar body phosphatidylglycerol and phosphatidylinositol in fetal lung tissue. *Endocrinology* 112:1016-1018,1983.
- 31.- AMIT T., Barkey RJ., Govish M., Youdin MB. Induction of prolactin (PRL) receptors by PRL in the rat lung and liver. Demonstration and characterization of a soluble receptor. *Endocrinology* 114:545-552,1984.
- 32.- JOSIMOVICH JB, Merisko K., Boccella L., Tabon M. Binding of prolactin by fetal rhesus cell, membrane fractions. *Endocrinology* 100:557-563,1977.
- 33.- CATTERTON WZ., Escobedo MB., Sexon WL., Gray ME., Sundell HW., Stahlman MT. Effect of epidermal growth factor on lung maturation in fetal rabbits. *Pediatr. Res.* 13:104-108,1979.
- 34.- GROSS I., Dyma DW. Do EGF and glucocorticoids act at the same metabolic sites in fetal rat lung?. *Pediatr. Res.* 18:392A,1984..
- 35.- ROBERT MF., Neff RK., Hubbell JP., Taesch HW., Avery ME., Association between maternal diabetes and the respiratory distress syndrome in the newborn. *N. Engl. J. Med.* 294:357-360, 1976.
- 36.- ROONEY SA., Nardone LL, Snapiro DL., Motoyama EK., Gelven I., Zechinger N. The phospholipids of rabbit type II alveolar epithelial cells: comparisons with lung lavage, lung tissue alveolar macrophages and a human alveolar tumor cell line. *Lipids* 12:438-442,1977.
- 37.- TYDEN O., Bern C., Eriksson U. Lung maturation in fetuses of diabetic rats. *Pediatr. Res.* 14:1192-1195,1980.
- 38.- ERIKSSON UJ., Tyden O., Borne C. Development of phosphatidylglycerol biosynthesis in the lungs fetuses of diabetic rat. *Diabetologia* 24:202-206,1983.
- 39.- GEWOLB IH., Barrat C., Wilson CM., Warshaw JB. Delay in pulmonary glucogen degradation in fetuses of streptozotocin diabetic rats. *Pediatr. Res.* 16:869-873,1982.
- 40.- WARBURTON D, Lew CD., Platzker AC. Primary hyperinsulinemia reduces surface active material flux in tracheal fluid of fetal lambs. *Pediatr. Res.* 15:1422-1464,1981.

- 41.- NEUFELD ND., Corbe LM., Kaplan SA. Plasma membrane insulin receptor in fetal rabbit lung. *Pediatr. Res.* 15:1058-1062, 1981.
- 42.- NEUFELD ND., Sevanian A., Barret CT., Kaplan SA. Inhibition of surfactant production by insulin in fetal rabbit lung slices. *Pediatr. Res.* 13:752-754, 1979.
- 43.- ROONEY SA., Ingleson LD., Wilson CM., Gross I. Insulin antagonism of dexametasone induced stimulation of choline phosphate cytidyltransferase in fetal rat lung in organ culture. *Lung* 158:151-155, 1980.
- 44.- CHENG JB., Goldstein A., Buihara P., Roberts JM. Glucocorticoids increase pulmonary  $\beta$  adrenergic receptors in fetal rabbit. *Endocrinology* 107:1646-1648, 1980.
- 45.- WHITSETT JA., Darovec-Beckerman C., Polinger J., Morre JJ. Ontogeny of  $\beta$  adrenergic receptors in the rat lung: effects of hypothyroidism. *Pediatr. Res.* 16:381-387, 1982.
- 46.- LAWSON EE., Biedwell RL., Huang PS., Taensch HW Jr. Augmentation of pulmonary surfactant secretion by lung expansion at birth. *Pediatr. Res.* 13:611-614, 1979.
- 47.- BALLARD PL., Ballard RA., Granberg JP. Fetal sex and betamethasone therapy. *J Pediatr.* 97:451-454, 1980.
- 48.- KHOSLA SS., Rooney SA. Stimulation of fetal lung surfactant production by administration of 17  $\beta$  estradiol to the maternal rabbit. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 133:213-216, 1979.
- 49.- GLUCK L., Kulovich M., Borer R., Keidal N. The interpretation and significance of the lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 120:142-155, 1974.
- 50.- MUKHERJEE I.K., Rajegowda B.K., Glass L., Auerbach J., Evans H. Amniotic fluid shake test versus lecithin/sphingomyelin ratio in the antenatal prediction of respiratory distress syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 119:658-662, 1979.
- 51.- KARCHMER K S., Diaz Infante J.S., Rios G., Murrieta S. Relación de lecitina-esfingomielina en líquido amniótico como prueba para determinar la madurez fetal. *Gynec. Obstet. Mex* 33:633-638, 1973.
- 52.- LOZANO DE LA GARZA J.G., Shor Pinsker V., García A., Avila D., López García R., Karchmer S. Valor pronóstico de tres pruebas de madurez pulmonar fetal. *Ginec. Obstet. Méx.* 43:233-241, 1978.
- 53.- WITHWORTH N.S., Morrison J.C., Whitton A., Bowers K. Quantified scoring of the amniotic fluid surfactant foam test and assesment of factors contributing to false negative test results. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 145:752-756, 1983.

- 54.- SHOR PINSKER V., Lozano de la Garza J., López García R., Karchmer S. Influencia de algunas patologías médicas obstétricas sobre los fosfolípidos del líquido amniótico. *Ginec. Obstet. México*. 47:83-93, 1980.
- 55.- CASPI E., Schreyer P. and Tamir I. The amniotic fluid foam test L/E ratio, and total phospholipids in the evaluation of fetal lung maturity. *Am. J. Obstet Gynecol.* 122:323-326, 1974.
- 56.- SCHREYER P., Tamir I., Bukovsky I., Weinraub Z., Caspi E. Amniotic fluid total phospholipids versus lecithin/sphingomyelin ratio in the evaluation of fetal lung maturity. *Am.J. Obstet. Gynecol.* 120:909-917.
- 57.- FORSBACH G., Cabrera V., Fonseca Ma., Chávez Azuela J., Canales E., Zarate A. Predicción de la madurez pulmonar fetal en el embarazo de riesgo alto mediante la determinación de lecitina y de la relación lecitina/esfingomielina en líquido amniótico. *Ginec. Obstet. Méx.* 47:143-147, 1980.
- 58.- FREEMAN R., Bateman B., Goebeismann U., Arce J., James J. Clinical experience with the amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 119:239-242, 1974.
- 59.- SKJAERAASEN J., Pederesen S. Amniotic fluid phosphatidylinositol. I Normal pregnancies. *Act. Obstet. Gynecol. Scand.* 58:225-229, 1979.
- 60.- TULCHINSKY D. and Ryan K. Maternal-fetal endocrinology. Edit W.B. Saunders Company 1980.
- 61.- HALLMAN M., Kulovicch M., Kirkpatrick E., Sugarman R., Gluck L. Phosphatidylinositol and Phosphatidylglycerol in amniotic fluid: Indices of lung maturity *AM.J. Obstet. Gynecol* 125:613-617, 1972.
- 62.- VARMA K., Heine M., Haller W., Row A., Railsback K. and Varma SK. Ratio of amniotic fluid cortisol and maternal serum cortisol (AFC/MSC) as an index of fetal lung maturity. *Acta Obstet Scand.* 58:439-442, 1979.
- 63.- PATRICK J., Challis J., Campbell K., Carmichael L., Matate R., Richardson B. Circadian rhythm in maternal plasma cortisol and estriol concentrations at 30 to 31, 34 to 35 and 38 to 39 weeks gestational age. *Am. J. Obstet Gynecol.* 136:325-333, 1980.
- 64.- OHLANDER S., Gennser G. and Eneroth P. Plasma cortisol levels in human fetus during parturition. *Obstetrics and Gynecology* 48:381-386, 1976.
- 65.- FENCL M., and Tulchinsky D. Total cortisol in amniotic fluid and fetal lung maturation. *N. Engl. J. Med* 292:133-136, 1975.
- 66.- TOMAZEVIC T., Kovacic J. and Vrhorec I. Umbilical cord cortisol in breech delivery. *J. of Reproductive Medicine* 30:53-56, 1985.

- 67.- SAUNDERS B., Kulovich M., and Giuck J. Valoración prenatal de la maduración pulmonar. *Clinicas de Perinatología*. Edit. Interamericana 2:231-242, 1976.
- 68.- TABSH K., Brinkman JF CR., Bashore RA. Lecithin/sphingomyelin ratio In pregnancies complicated by insulin-dependent diabetes mellitus. *Obstet. Gynecol* 59:353-358, 1982.
- 69.- BISTRITZER T, Hertzianu I., Lagstein R., Goldberg M., Lozebnik N., Aiadjen M. Cord blood insulin concentration in premature infants with respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 108:293-295, 1985.
- 70.- WEISS P, P Pustner P, Winter R., Lichtenegger W. Insulin levels in amniotic fluid of normal and abnormal pregnancies. *Obstetrics Gynecology*. 63:371-375, 1984.
- 71.- ANDERSEN J. Prolactin in Amniotic Fluid and Maternal Serum during uncomplicated Human Pregnancy. *Dan. Med. Bull* 29:266-274, 1982.
- 72.- HWANG P., Guyda H. and Friesen H. A radioimmunoassay for human prolactin. *Proc. Na. Acad. Sci. USA*. 68:1902-1906, 1971.
- 73.- SIZONENKO P, Aubert M. *Pre-and Perinatal Endocrinology*. Human Growth 2nd. Ed. Ed. J. Tanner y F. Falkner. 1:339-376. 1986.
- 74.- LUCIANO A. and Varner M. Decidual, Amniotic Fluid, Maternal and Fetal Prolactin in Normal and Abnormal Pregnancies. *Obstetrics Gynecology* 63:364-382, 1984.
- 75.- ALGER M., Montaño P, Caballero., M. Forsbach., G. Arcovedo., F. Canales E., Murrieta S., Zarate A. Correlación entre el prolactin fetal y el Síndrome de Insuficiencia Respiratoria idiópática del recién nacido. *Ginec. Obstet. Mex*. 47:149-153, 1980.
- 76.- HAMOSH M., and Hamosh P. The effect of Prolactin on the Lecithin content of Fetal Rabbit Lung. *J. Clin. Invest.* 59:1002-1005, 1977.
- 77.- HAUTH J, Richard Parker F and Mc. Donald P, Porter J, Johnston J. A role of fetal prolactin in lung maturation. *Obstetrics and Gynecology* 51:81-88, 1978.
- 78.- FONSECA Ma, Mason M, Carballo O., Murrieta S., Ruiz J., Zarate A., y col. Hormonas en líquido amniótico y su relación con el síndrome de insuficiencia respiratoria. *Arch. invest. Med. (Mex)* 14:423-425, 1983.
- 79.- LEMARCHAND-BERAUD TH. Genozani A. and Bagnoli F., Casali M. Thyroid function in the premature and the full term newborn. *Acta Endocrinológica*. 70:445-453, 1972.

- 80.- GONZALEZ A., Espinoza de los Monteros M., y Reynoso E. Tiroxina y Tirotrópica séricas en el recién nacido sano. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 41:515-518, 1984.
- 81.- CUESTAS R., Lindall A., Engel R. Low thyroid and respiratory distress syndrome of the newborn. *New Engl. J. Med.* 295:297-302, 1976.
- 82.- FISHER D., and Klein A. Thyroid development and disorders of thyroid function in the newborn. *New Engl. J. Med.* 19:702-712, 1981.
- 83.- ABUID J., Stinson D and Larsen P. Serum triiodothyronine and thyroxine in the neonate and the acute increases in the hormones following delivery. *J. Clin. Invest.* 52:1195-1199, 1973.
- 84.- CHOPRA I., Sack J. and Fisher D. Circulating 3, 3', 5'-triiodothyronine (reverse T<sub>3</sub>) in the human newborn. *J. Clin. Invest.* 55:1137-1141, 1975.
- 85.- JOHNSON J., Tyson JE., Mitzner W., Beck J., Andreassen B., Landon W., Villar J. Amniotic fluid prolactin and fetal lung maturation. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 153:372-380, 1985.
- 86.- HATJIS CG y Wu Ch., Gabee SG. Amniotic fluid prolactin levels and lecithin/sphingomyelin ratios during the third trimester of human gestation. *Am. J. Obstet Gynecol.* 139:435-439, 1981.
- 87.- CANALES E., Soria J., Guzmán V., Forsback G., Mason M., Fonseca E., Zarate A. Prolactina en líquido amniótico. *Ginec. Obstet. Mex.* 40:297-301, 1976.
- 88.- AUBERT M., Grumbach M., Kaplan S., The ontogenesis of human fetal hormones. *J. Clin. Invest.* 56:155-164, 1975.
- 89.- SOKAL R., Rohrer. *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research.* W.H. Freeman and Company. San Francisco, Cal. USA. 1969.