

**UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**INSTITUTO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL**

**SURFACTANTES PULMONARES:  
COMPOSICIÓN, FUNCIÓN, FACTORES MODULADORES DE SU SECRECIÓN Y SU  
POTENCIAL USO EN OBSTETRICIA DEL BOVINO. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.**

Memoria de Título presentada como parte  
de los requisitos para optar al TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO

**LUIS ANTONIO LASO SAENZ**

**VALDIVIA – CHILE**

**2003**

**POFESOR PATROCINANTE:**

---

**PROFESOR COPATROCINANTE:**

---

**PROFESOR COLABORADOR:**

---

**PROFESORES CALIFICADORES:**

---

---

**FECHA DE APROBACIÓN:**

---

A mi familia,  
que siempre me ha apoyado  
a cumplir mis metas  
y seguir creciendo.

# ÍNDICE

	PÁGINA
1. RESUMEN.....	1
2. SUMMARY.....	2
3. INTRODUCCIÓN.....	3
4. MATERIAL Y MÉTODO.....	5
5. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.....	7
6. DISCUSIÓN.....	26
7. CONCLUSIONES.....	29
8. BIBLIOGRAFÍA.....	30
9. AGRADECIMIENTOS.....	39

## 1. RESUMEN

Se realizó una revisión bibliográfica acerca de los surfactantes pulmonares en Medicina Veterinaria. Para ello se investigó la información existente en las diferentes especies domésticas y en cierta forma se contrastaron con estudios en la especie humana, bastante mas abundantes, que puedan aportar conocimientos de la maduración pulmonar en las especies domésticas.

Dentro de los temas que abarca esta revisión están la presentación de los surfactantes pulmonares su composición y función en el pulmón fetal. Además se analizaron los diferentes métodos de laboratorio utilizados para la predicción de la madurez pulmonar, aspecto fundamental en la llamada inducción de parto encaminada a lograr una mejor Relación Materno: Fetal en las especies domésticas de importancia económica.

**Palabras claves:** Surfactantes pulmonares; líquido amniótico; fosfatidilcolina; síndrome de distress respiratorio; maduración pulmonar.

## 2. SUMMARY

The purpose of this thesis was to review the literature concerning of the composition and the physiology in the pulmonary surfactants in domestic animals and human beings.

The information found for domestic animals was rather barely compared with the extensive literature found for human beings.

The different methods to evaluate pulmonary maturity were also reviewed.

**Key words:** Pulmonary surfactants; amniotic fluid; phosphatidylcholine; respiratory distress syndrome; pulmonary maturity.

### 3. INTRODUCCIÓN

Antes del nacimiento los pulmones de los mamíferos se encuentran colmados por un líquido de alta concentración de cloro, escasas proteínas, algo de mucosidad, proveniente de las glándulas bronquiales, así como de una sustancia surfactante formada por las células epiteliales alveolares tipo II. El volumen de surfactante va en aumento en las últimas dos semanas de vida intrauterina. Los movimientos respiratorios del feto comienzan antes del parto y ocasionan la aspiración de líquido amniótico que estimula el desarrollo de los pulmones y el acondicionamiento de los músculos de la respiración. Al iniciarse la respiración con el nacimiento, la mayor parte del líquido que ocupaba los pulmones es reabsorbido rápidamente por los capilares sanguíneos y linfáticos mientras que el surfactante permanece depositado en forma de una delgada capa fosfolipídica sobre la membrana de las células alveolares. Al entrar aire en los alvéolos con la primera inspiración, la capa de surfactante impide que se produzca una interfase aire/agua (de la sangre) con alta tensión superficial (Ikegami y col, 2000., Flores, 2000\*), evitando así el colapso alveolar durante la fase expiratoria (atelectasia).

De las especies domesticas, la vaca es la que requiere más a menudo de intervención o asistencia al momento del parto por problemas de distocia. Dado principalmente por la desrelación materno/fetal, por el gran crecimiento del feto en esta especie, que llega a valores de 600 gr. diarios en el último período de la gestación, se ha ideado y ensayado como medida preventiva la inducción mas temprana del parto. El propósito de esta inducción del parto es acortar el tiempo de gestación con el objetivo de disminuir el tamaño del feto con lo que se mejora la relación materno/fetal. (Derivaux y Ectors, 1984). El mayor inconveniente que se tiene al acortar el tiempo de gestación, es el nacimiento de terneros prematuros, en los cuales no se llega a finalizar la maduración pulmonar y como consecuencia de esto hay una falta de producción de surfactantes (Zaremba, 1996).

El uso de fármacos para inducir la maduración pulmonar ha sido muy estudiada, principalmente en la especie humana. Al parecer, la intervención mas estudiada para inducir madurez pulmonar fetal es la administración antenatal de corticoides a la madre (Acosta y col, 2000). En Medicina Veterinaria, los corticoides son utilizados principalmente en la inducción del parto, pero estudios mas recientes han demostrado que estos fármacos estimularían la maduración pulmonar en las especies domesticas. Es así que Zaremba y col (1997) afirman que la flumetazona estimula la maduración pulmonar en fetos bovinos, disminuyendo la incidencia del síndrome de distress respiratorio en esta especie.

---

\*Flores, G. 2000. Surfactantes pulmonares. En: [www.sociedadmedicallanquihue.cl](http://www.sociedadmedicallanquihue.cl)

Parece haber diferencias en la fisiología pulmonar en lo relacionado a la síntesis de surfactantes pulmonares entre las especies domesticas y la especie humana. En la especie humana los corticoides se utilizan de manera preventiva a partir de las 26 semanas de gestación para estimular la maduración pulmonar y síntesis de surfactantes, a diferencia de la vaca, en la cual se sabe que los corticoides entre los 150 y 250 días son abortivos (El Manual Merck, 2000). Por lo anterior es de gran interés el conocer o buscar otras alternativas que influyan positivamente sobre la maduración pulmonar del feto bovino como ser prolactina, tiroxina, estrógenos y catecolaminas.

De igual importancia, al hacer inducción del parto, es saber si el Médico Veterinario se encuentra ante un feto pulmonarmente maduro, lo cual es posible, en la actualidad, solo mediante la obtención de muestras de líquido amniótico, con las que se pueden medir los componentes del surfactante y determinar el grado de madurez pulmonar del feto. La obtención de líquido amniótico por amniocentesis en la mujer constituye una técnica, se puede decir, rutinaria. Por el contrario en Medicina Veterinaria son muy pocos los estudios a este respecto siendo una posible línea de investigación que continúe a este trabajo de revisión.

La prevención del síndrome de distress respiratorio en la Obstetricia Veterinaria con ese eventual logro (punción del amnios) podría pasar a ser una valiosa herramienta para disminuir la mortalidad neo y perinatal que en todo el mundo sigue siendo muy alta, particularmente tras distocias por la desrelación materno/fetal.

Por lo anterior los objetivos de esta revisión bibliográfica son:

Realizar una revisión sobre los surfactantes pulmonares que sirva como base informativa para futuros trabajos prácticos en la Neonatología Veterinaria.

Revisar la bibliografía disponible del tema en la especie humana y analizar la posibilidad de aplicar los conocimientos alcanzados en las especies domesticas.

Conocer la fisiología y composición de los surfactantes pulmonares y determinar la importancia de estos en Medicina Veterinaria.

Revisar los diferentes fármacos utilizados en la especie humana para inducir la maduración pulmonar del feto y analizar cuales podrían ser utilizados en el bovino.

Conocer los diferentes análisis para determinar maduración pulmonar del feto y ver cuales podrían ser aplicados en Medicina veterinaria.

Por último revisar los conocimientos que se tiene en la especie humana con respecto a la toma de muestras de líquido amniótico para determinar los componentes de surfactante y ver la posibilidad de aplicar estas técnicas en el bovino.



#### 4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se procedió a la revisión de textos clásicos y revistas, fundamentalmente de la Biblioteca de la Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile, en el período 1975 a 2003. Complementariamente se utilizaron por Internet, principalmente los buscadores : Google, Altavista y Visión Veterinaria.

Se revisaron además las bases de datos ISI WEB OF SCIENCE, MEDLINE y LILACS, de la Universidad Austral de Chile, como fuente de referencias bibliográficas para la obtención de artículos de revistas concernientes al tema. Finalmente se usó material bibliográfico, principalmente en alemán, existente en el Instituto de Reproducción Animal.

La elección de las fuentes se realizó, principalmente, con la intención de una posible aplicación de los conocimientos a la Obstetricia Veterinaria, campo que se estima ha hecho poco uso de los abundantes conocimientos en la materia debido, probablemente, a las variadas diferencias interespecies.

La revisión de los artículos publicados se realizó por: título de artículo, autor (es), fecha de publicación y resumen.

Para la búsqueda de los artículos en las bases de datos se utilizaron las siguientes palabras claves:

- Fosfatidilcolina
- Maduración pulmonar
- Surfactantes pulmonares
- Líquido amniótico
- Lecitina
- Esfingomielina
- Síndrome de distress respiratorio
- Enfermedad de membrana hialina

Los criterios de selección que se utilizó para buscar los artículos fueron:

- Terneros
- Bovinos
- Veterinaria
- Animales
- Rumiantes
- Niños
- Humanos

La obtención de fuentes bibliográficas que no están disponibles en la biblioteca de la Universidad Austral de Chile, se hizo a través de literatura particular de profesores de la facultad, la ayuda de dos médicos de los Estados Unidos relacionados al candidato que enviaron artículos completos vía internet y por último la búsqueda de artículos a texto completo en internet.

## 5. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS.

### 5.1. FUNCIÓN Y COMPOSICIÓN DEL SURFACTANTE.

Según Cunningham (1999) la composición del surfactante pulmonar es similar en las diferentes especies, siendo una mezcla de lípidos y proteínas.

Díaz Atencio (1992)., Meneghello y col (1997) e Ikegami y col (2000) afirman que el surfactante está compuesto principalmente por fosfolípidos (80-90%), proteínas (10%) y una pequeña cantidad de lípidos neutros. De los fosfolípidos el principal componente es la fosfatidilcolina (FC) que se encuentra en su forma saturada en un 50-60% con dos ácidos grasos de 16 carbonos (ácido palmítico) esterificados en su molécula. Esta forma saturada de la FC es denominada lecitina.

Esta FC disaturada (lecitina) es el principal componente tensoactivo del surfactante. Sin embargo la FC sola es un pobre surfactante y en condiciones fisiológicas no forma una capa lipídica sin la presencia de otros componentes de surfactante (proteico y lipídico) (Liley y col, 1987., Torres y Maturana, 2000\*). Estudios in vitro han demostrado que al adicionar pequeñas cantidades (1 a 2%) de apoproteínas hidrofóbicas del surfactante como la proteína de surfactante B (SP-B) y proteína de surfactante C (SP-C), aumenta considerablemente el rango de adsorción de material tensoactivo en la interfase aire/líquido, comparado con la presencia solo de fosfolípidos (Ingenito y col, 1999).

Aproximadamente el 3% del surfactante del pulmón maduro es fosfatidilglicerol (FG), que se encuentra en mayor concentración en el fluido broncoalveolar. El fosfatidilinositol (FI) representa una muy pequeña cantidad de los compuestos estabilizadores del pulmón; pero aparentemente sería indispensable, al igual que el FG, para que la lecitina ejerza una buena acción surfactante (Rizzardini, 1980). En menor cantidad se encuentra la fosfatidilserina, la fosfatidiletanolamina y la esfingomiélin (Sánchez y Donoso, 1999).

Existen cuatro proteínas específicas de surfactante que han sido caracterizadas: dos proteínas son hidrofóbicas: SP-B y SP-C y dos proteínas son hidrofílicas: proteína de surfactante A (SP-A) y proteína de surfactante D (SP-D) (Danlois y col, 2003).

**5.1.1. Proteína de surfactante SP-B:** para ejercer de forma adecuada su función, él surfactante debe adherirse a la interfase aire/líquido manteniendo una monocapa coherente, incluso bajo importantes presiones que se ejercen durante la respiración. Esta proteína tiene como función principal estabilizar la monocapa lipídica antes mencionada constituyendo un componente esencial del surfactante.

---

\*Torres, J., A. Maturana. 2000. Maduración pulmonar fetal. En: [www. Hospital.uchile.cl](http://www.Hospital.uchile.cl)

Su ausencia o inactivación produce graves trastornos en la función respiratoria del neonato (Meneghello y col, 1997., Torres y Maturana, 2000). Esta proteína está formada por 79 aminoácidos y se encuentra en cantidades considerables en los fosfolípidos de los surfactantes. Es producto de un proceso proteolítico en un precursor mayor glicosilado. Se une fuertemente a los fosfolípidos interactuando con ellos para aumentar las propiedades surfactivas favoreciendo la rápida distribución y estabilidad durante la compresión dinámica (Díaz Atencio, 1992).

**5.1.2. Proteína de surfactante SP-C:** está formada por 35 aminoácidos. Al igual que la SP-B es producto de la proteólisis de un producto primario mayor de traducción (Díaz Atencio, 1992). Favorece la dispersión y distribución del surfactante. Además esta proteína, junto con SP-B, reducen la tensión superficial (Johansson y Curstedt, 1997).

**5.1.3. Proteína de surfactante SP-A:** parece ser importante en la organización de la mielina tubular. La mielina tubular ha sido descrita como una matriz formada por fosfolípidos y proteínas que ayudan en la mantención de la monocapa lipídica, actuando bajo la misma en un reservorio de surfactante. Esta proteína también participa en la regulación del metabolismo del surfactante, aumentando la reabsorción de fosfolípidos e inhibiendo su secreción por los neumocitos tipo II. Además parece tener una función inmunitaria ya que ayuda a regular la función de los macrófagos alveolares y puede opsonizar algunas bacterias y virus (Phelps y col, 1984., Liley y col, 1987). Según Díaz Atencio (1992) la SP-A es una glicoproteína de 238 aminoácidos, es la más abundante y aumenta la actividad de superficie de los fosfolípidos del surfactante y su captación, pero inhibe su secreción in vitro por las células epiteliales tipo II. Se une a los fosfolípidos y carbohidratos por una vía que necesita la presencia de calcio y contribuye a la formación de la mielina tubular.

**5.1.4. Proteína de surfactante SP-D:** Se identificó en el lavado broncoalveolar de ratas. Es una glicoproteína colagenada la cual se une débilmente a fosfolípidos y preferentemente a los carbohidratos como la maltosa. Se piensa que la síntesis y proceso de traducción es muy similar al de la SP-A. Esta proteína regula el metabolismo del surfactante y actúa en la defensa antimicrobiana pulmonar (Phelps y col, 1984., Díaz Atencio, 1992., Meneghello y col, 1997).

## 5.2. MORFOLOGÍA PULMONAR Y SÍNTESIS DEL SURFACTANTE.

### 5.2.1. Anatomía pulmonar fetal.

#### La vía aérea:

Su principal elemento, la traquea, se divide inicialmente en bronquios principales que son el derecho y el izquierdo, que a su vez vuelven a dividirse en bronquiolos, continúan los conductos alveolares, sacos alveolares y alvéolos (Sisson y Grossman, 1993).

#### Los alvéolos:

Constituyen la unidad terminal de la vía aérea y tienen como función fundamental el intercambio gaseoso entre la sangre del recién nacido y el ambiente.

El alvéolo está recubierto por dos tipos fundamentales de células: los neumocitos tipo I, que forman una delgada capa que lo recubre y neumocitos tipo II que forman parte de la pared alveolar; estos tienen un citoplasma muy rico en organelos, en los que, se cree, se almacena el surfactante. Como ya se ha dicho, el surfactante reduce la tensión superficial en el alvéolo, tapizando a este en todo su interior. Igualmente en el alvéolo se encuentran macrófagos y mastocitos. Todas estas estructuras forman el lado epitelial del alvéolo (Sánchez y Donoso, 1999).

Los alvéolos están recubiertos por una extensa red capilar que a modo de un velo prácticamente continuo, los tapiza externamente. De esta forma se establece un íntimo contacto anatómico entre la luz alveolar (por dentro) y el capilar alveolar (por fuera) (Sisson y Grossman, 1993).

### 5.2.2. Desarrollo pulmonar del feto.

Al momento del nacimiento el pulmón debe encontrarse preparado (maduro) para asumir las funciones de intercambio de gases que hasta ahora se desarrollaban por la placenta.

El pulmón se desarrolla en tres fases de duración equivalente:

**5.2.2.1. Fase glandular:** durante el primer tercio de la gestación se desarrolla el botón pulmonar, desde el intestino anterior, que invade el mesénquima del tórax y se divide en las tres ramas de las vías respiratorias principales. Debido a que estas vías respiratorias primordiales se encuentran tapizadas por un epitelio cuboidal y se parecen a una glándula en un corte transversal, se conoce a este estadio del desarrollo como fase glandular (Cunningham, 1999). En esta etapa los diferentes tipos celulares del epitelio respiratorio ya tienen una diferenciación rudimentaria y al término de esta etapa las arterias, venas y la vía aérea están dispuestas en un patrón relativamente similar al del adulto (Meneghello y col, 1997).

**5.2.2.2. Fase canalicular:** esta etapa se denomina canalicular por la aparición de canales vasculares que se aproximan a los espacios aéreos en formación. Esta etapa comprende el paso de un pulmón previsible a uno potencialmente viable. Para que esto ocurra deben cumplirse tres eventos esenciales para la posterior vida extrauterina:

- Aparición de las unidades acinares
- Desarrollo de la barrera alvéolo capilar
- Comienzo de la síntesis de surfactante.

La unidad acinar está constituida por un grupo de bronquíolos respiratorios y alvéolos que se originan de un bronquíolo terminal. Las membranas basales del epitelio respiratorio y vascular se fusionan, lo que va a permitir más tarde el intercambio gaseoso en la vida extrauterina (Torres y Maturana, 2000).

El citoplasma de las células que van a dar origen a los neumocitos tipo I y II pueden ser reconocidas porque en los neumocitos tipo II aparece glucógeno y cuerpos lamelares que indican el comienzo de la producción de surfactante por el pulmón fetal, cosa que no sucede en los neumocitos tipo I (Meneghello y col, 1997., Torres y Maturana, 2000).

**5.2.2.3. fase final:** o también llamada de saco alveolar, se desarrollan los “sacos alveolares” y en algunas especies los alvéolos. La fase de madurez del pulmón al nacimiento, por lo general, se conjuga con la madurez del feto (Cunningham, 1999). En esta última etapa y durante ella ocurre una disminución del espesor del intersticio, aparición de tabiques en los sáculos terminales y adelgazamiento del epitelio. Se encuentran además cuerpos lamelares de mayor tamaño y en mayor cantidad (Meneghello y col, 1997., Torres y Maturana, 2000).

### **5.2.3. Síntesis de los surfactantes pulmonares y su relación con el tiempo de gestación.**

El interés por la ontogenia del surfactante pulmonar comenzó en 1959 cuando Avery y Mead demostraron que los pulmones de recién nacidos que morían de membrana hialina tenían una alta tensión superficial por deficiencia del material responsable de disminuirla.

La existencia del surfactante pulmonar había sido ya predicha por Kurt Von Neergard en 1929, sin embargo existió un largo olvido hasta mediados de la década del 50 cuando Pattle y Clements lo redescubrieron y se comunicó su naturaleza lipoproteica. En la actualidad es bien conocida su composición cualitativa en el humano. (Arenas, 1985., Díaz Atencio, 1992).

Hacia la mitad de la gestación, aproximadamente, comienza un aumento en la síntesis de componentes surfactantes dentro del pulmón. Este incremento coincide con la aparición de las células alveolares tipo II, que originan el surfactante y produce un aumento del flujo sanguíneo pulmonar. La madurez pulmonar coincide con un aumento de la concentración de cortisol sérico en el feto (Cunningham, 1999).

Flores (2000) afirma que los corticoides fetales inducen en los pulmones una diferenciación de las células alveolares tipo II y estimulan la síntesis de surfactante pulmonar.

En el núcleo de los neumocitos alveolares tipo II se sintetizan proteínas. Estas proteínas pasan a constituirse en gránulos secretores llamados cuerpos lamelares o inclusiones osmiofílicas, que forman lipoproteínas. Estas lipoproteínas pasan a denominarse Mielina Tubular, la cual es liberada y recubre como una película superficial al alvéolo pasando a llamarse presurfactante (Flores, 2000). Según Díaz Atencio (1992) la mayoría de los componentes del surfactante son sintetizados y secretados por la célula alveolar tipo II. Los cuerpos lamelares de estas células han sido reconocidos como almacenamiento intracelular del surfactante. Los cuerpos lamelares tienen enzimas de origen lisosomal y mantienen un gradiente de pH a través de la membrana con un interior ácido, esto puede estar relacionado con el catabolismo del material internalizado desde el espacio alveolar.

Se ha demostrado experimentalmente que aproximadamente el 85% de los componentes básicos del surfactante serían reutilizados o reciclados (Jacobs y col, 1983).

#### 5.2.4. Modulación de la secreción del surfactante.

Entre los moduladores positivos de la secreción del surfactante se encuentran:

**Receptores Colinérgicos:** los agonistas colinérgicos no tienen un efecto directo sobre la secreción del surfactante, sin embargo la estimulación indirecta colinérgica si aumenta la secreción *in vivo* probablemente mediada vía medular adrenal (Abdellatif y Hollingsworth, 1980., Massaro y col, 1982).

**Receptores Adrenérgicos:** la secreción del surfactante aumenta en respuesta a agonistas adrenérgicos en los modelos *in vivo* e *in vitro*. Una variedad de beta-agonistas, entre los que se incluyen isoproterenol, terbutalina, salbutamol e isoxsuprine estimulan la secreción de fosfatidilcolina (Abdellatif y Hollingsworth, 1980., Massaro y col, 1982., Corbet y col, 1983). Se produce un aumento en el AMPc celular lo que a su vez activa la proteinquinasa C dependiente del AMPc y se efectúa la fosforilación de la actina y posiblemente de otras proteínas (Díaz Atencio, 1992).

**Corticoides:** los efectos de los corticoides pueden ser positivos o negativos dependiendo de la proteína del surfactante, de la dosis usada y de la edad de desarrollo gestacional. Influyen en la velocidad de transcripción de las proteínas y en el recambio de los RNAm. Estimulan la expresión de RNA para SP-B y SP-C en los cultivos de pulmón fetal, pero a concentraciones que inhiben la expresión para el RNA de la SP-A (Díaz Atencio, 1992).

**Purinoreceptores:** estos se relacionan con la secreción del surfactante. Los agonistas de los purinoreceptores P1 y de los receptores  $\beta$ -adrenérgicos pueden operar a través del mismo mecanismo. Los agonistas para purinoreceptores P2, ATP y ADP aumentan la secreción del surfactante (Chander, 1989., Rice y col, 1990). Los efectos del ATP son mediados por la

activación de la proteinquinasa C y movilización de calcio. Esto explica porqué la hidrólisis del ATP a AMP y adenosina activan secundariamente los purinoreceptores P1 con el consiguiente aumento del AMPc y secreción de FC (Warburton y col, 1989a).

**Receptores de vasopresina:** las células aisladas tipo II en cultivo primario responden a la vasopresina lo que aumenta la secreción de fosfatidilcolina. Se sugiere que su efecto no es mediado por un aumento del AMPc y que la activación de la proteinquinasa C está relacionado con la estimulación por vasopresina de la secreción de fosfatidilcolina por las células tipo II aisladas (Brown y Wood, 1989).

**Calcio:** el aumento del calcio en el citosol de los depósitos internos o externos se asocia con la secreción de fosfatidilcolina. Hay observaciones que sugieren la participación del calcio intracelular y de flujos de calcio en la secreción, pero no aclaran los posibles mecanismos o las vías celulares involucradas (Sano y col, 1987., Warburton y col, 1989b).

**Factores fisicoquímicos:** se ha observado un aumento en la secreción del surfactante con la hiperventilación (Oyarsun y Clement, 1978., Mason y Voelker, 1998). El efecto del aumento del volumen corriente no es tan acentuado *in vitro* como *in vivo*, lo que sugiere que pueden estar involucrados algunos factores sistémicos. Un posible mediador de la hiperventilación, es la distensión alveolar. Se han logrado aumentos similares con la alcalosis metabólica, lo que significa que la alcalosis intracelular puede ser una de las causas de la inducción de secreción por la hiperventilación. Así los efectos de la hiperventilación pueden deberse tanto al estiramiento o distensión y a la alcalosis intracelular y esta última puede ser mediada por activación de la vía de la proteinquinasa C (Massaro y col, 1982., Boggaram y col, 1989., Díaz Atencio, 1992).

**Ácido araquidónico y sus metabolitos:** aumentan la secreción del surfactante por las células tipo II aisladas y en los animales (Oyarsun y Clement, 1978., Gilfillan y Rooney, 1985., Baybutt y col, 1994). Esto se debería, principalmente, a la formación de productos de la vía de la lipooxigenasa, siendo el leucotrieno 4 el más potente. El mismo efecto se ha observado a través de la prostaglandina E2, posiblemente por estimulación de la adenilciclase y a un aumento del AMPc (Acarregui y col, 1990).

**Hormonas tiroideas:** La administración de tiroxina a fetos de conejo acelera la maduración pulmonar desde el punto de vista morfológico e incrementa la cantidad de fosfolípidos en el lavado broncoalveolar (Rooney, 1984). Estos datos sugieren que las hormonas tiroideas juegan un papel importante en la maduración del pulmón fetal. Kumar y Hedge (1983) han observado un descenso en la concentración de fosfolípidos del surfactante en casos de hipotiroidismo.

Entre los moduladores negativos de la secreción del surfactante se encuentran:

**Proteína del surfactante:** la SP-A posiblemente tenga un papel dual en la regulación. El efecto es general y no sobre una vía específica mediadora de la secreción. Debe actuar en un paso que sea distal a la generación de segundos mensajeros en el proceso secretor y es compartido por todas las vías secretoras conocidas en las células tipo II (Dobbs y col, 1987., Rice y col, 1987., Strayer y col,



1996). Alternamente la proteína puede actuar solo a nivel de la membrana celular para evitar la exocitosis de los cuerpos lamelares. Las modificaciones químicas que disminuyen la unión de la SP-A a su probable receptor disminuyen su actividad biológica. La ocupación de ciertos receptores en la membrana celular inhibe la secreción de surfactante de las células tipo II aisladas (Kuroki y col, 1988).

**Lectinas:** término aplicado a sustancias hemoaglutinantes, presentes en extractos salinos de las semillas de ciertas plantas como la del germen de trigo entre otras. Como la SP-A tiene cierta homología con una proteína hepática similar a las lectinas se han estudiado algunas de ellas. Se ha visto que inhiben la secreción del surfactante, se unen a los dominios de carbohidratos en la superficie celular. Su efecto no es el de un agonista específico y el mecanismo podría encontrarse a nivel de la membrana celular, pues se unen a las superficies apicales de la célula tipo II (Kuroki y col, 1988., Griese y col, 1991., Díaz Atencio, 1992).

**Purinoreceptores P1 subtipo A1:** posiblemente la adenosina liberada de la célula tipo II ocupa un receptor P1 subtipo A1 e inhibe la secreción del surfactante, en contraste con el efecto del subtipo A2 (Gobran y Rooney, 1990).

### 5.2.5. Depuración y reciclaje del surfactante pulmonar.

El metabolismo del surfactante después de ser liberado al alvéolo no está bien aclarado. Los datos disponibles apoyan la siguiente sucesión de eventos: el contenido de los cuerpos lamelares que se secreta al alvéolo forma la mielina tubular, esta, bajo ciertas condiciones adecuadas genera una película de superficie que debe ser una monocapa capaz de disminuir la tensión superficial y ser estable a bajos volúmenes pulmonares. Los lípidos y proteínas del surfactante pueden reciclarse, reutilizarse y ser degradados intra o extracelularmente. Los productos de degradación pueden ser usados para la síntesis de nuevos componentes del surfactante o bien, ser completamente removidos e incorporados a otras vías metabólicas (Wright y Clements, 1987., Díaz Atencio, 1992).

Hay estudios que sugieren que la célula tipo II, puede internalizar componentes del surfactante y que este material puede ser reciclado o degradado. Es más “económico” en términos de energía celular reciclar que sintetizar nuevo material. También es posible que las vías de degradación no sean tan eficientes. La hipótesis de que el surfactante pulmonar es reciclado está apoyada por estudios con marcadores, en los que se inyectan intravenosamente precursores lipídicos marcados y se analizan las actividades específicas de los fosfolípidos del lavado y de los cuerpos lamelares. Los resultados sugieren que los lípidos radiomarcados permanecen en el sistema surfactante por varios días. De esta forma los lípidos marcados van y vienen entre los compartimentos intra y extracelular. Las células tipo II aisladas degradan la fosfatidilcolina internalizada y reutilizan algunos productos para la síntesis de nuevos lípidos (Hallman y col, 1981., Chander y col, 1983., Chander y col, 1984).

Se desconocen los factores que determinan la eficiencia de reutilización del surfactante. La mayoría de los estudios de depuración lipídica se han enfocado en la FC, sin embargo, la composición fosfolipídica del surfactante es compleja y otros fosfolípidos pueden ser importantes.

Se han realizado estudios que sugieren que diferentes componentes lipídicos del surfactante pueden ser depurados a diferentes velocidades, pero se desconocen cuales son los factores determinantes (Oyarzun y col, 1980., Mihalko, 1989).

### **5.2.6. Bioquímica del surfactante pulmonar.**

Existen dos pasos enzimáticos que terminan con la producción de FC en los neumocitos:

**5.2.6.1.** El primero incluye tres reacciones: fosforilación de la colina; conversión del fosfato de colina en difosfato citidina y formación de FC.

Este es el principal paso enzimático para la biosíntesis de la lecitina en el pulmón humano (Epstein y Farrell, 1975). En el hombre esta vía madura hacia las 35 semanas, que es el momento en que aparece el sistema enzimático “transferasa de fosfocolina” muy poco influenciado por la acidosis, la hipotermia y la hipoxia (Rizzardini, 1980).

**5.2.6.2.** El segundo paso enzimático termina después de tres procesos de metilación de la fosfatidiletanol-amina en FC, sirviendo como donante del grupo metilo la S adenosilmetionina. En el feto humano esta vía enzimática denominada “transferasa de metilo” se identifica desde las 22 a 24 semanas de gestación y permite que el niño que nace prematuro pueda sobrevivir. Lo más significativo en la maduración pulmonar es el aumento de la concentración de la FC a medida que avanza la gestación, de tal manera que es total cuando la gestación ha completado el 90 % de su tiempo (Rizzardini, 1980).

El control bioquímico de la síntesis de surfactante depende de los sistemas circulatorio y neuroendocrino. Estos actúan a nivel celular y son regulados por enzimas.

Los precursores más importantes de la FC son los ácidos grasos del plasma, que circulan unidos a la albúmina. Estos ácidos grasos fácilmente pueden atravesar los capilares para llegar a la célula alveolar y formar FC (Rizzardini, 1980). Los triglicéridos también contribuyen a la formación de FC, pero por circular en forma de grandes partículas no atraviesan los endotelios capilares del pulmón. Para poder llegar a la célula alveolar deben sufrir hidrólisis bajo la acción de la enzima lipoproteína lipasa. Esta enzima es bastante abundante en el endotelio capilar del tejido pulmonar del feto, lo cual facilita la utilización de los triglicéridos para formar diglicéridos que unidos a la colina dan origen a FC.

La glucosa se transforma, en el pulmón fetal, fácilmente en lípido (ácidos grasos y glicerol). Esta transformación es siete a ocho veces mayor que la del adulto, lo cual podría tener significado en la menor producción de surfactante pulmonar cuando hay hipoglicemia (Rizzardini, 1980).

Farrell y Hamosh (1978) han llamado la atención sobre la importancia de la calidad de la FC para asegurar una adecuada función. Al final de la gestación existiría un remodelamiento de la FC, la cual, sin aumentar en cantidad, mejoraría en su eficacia. Es posible que los cambios en las concentraciones de FI y FG tengan alguna implicancia en este fenómeno, pues el surfactante que contiene lecitina, FG y FI proporciona una estabilidad alveolar mejor que el que solo contiene FI y lecitina, sin FG.

### 5.2.7. Influencia farmacológica en la maduración pulmonar.

En estudios desarrollados en la especie humana se ha determinado que son múltiples los estímulos fisiológicos y las condiciones que ejercen alguna influencia sobre la maduración pulmonar del feto. Al parecer, la intervención más estudiada para inducir madurez pulmonar fetal es la administración antenatal de **corticoides** a la madre (Acosta y col, 2000a).

La respuesta fetal a los corticoides exógenos es múltiple y afecta muchos sistemas que tienen relación con la función pulmonar fetal. Los corticoides actuarían uniéndose a receptores específicos en las células del pulmón fetal, estimulando la síntesis de RNA y proteína. Aparentemente existe un efecto sobre proteínas estructurales del pulmón como el colágeno, al igual que sobre proteínas asociadas al surfactante. El uso de corticoides también reduciría la tendencia por parte del pulmón fetal a desarrollar edema, el cual tiene un papel importante en la patología de la membrana hialina (Gluck y col, 1971., Torres y Maturana, 2000).

Según Farell y Zachman (1973) el efecto del corticoide se ejerce en cuatro niveles:

- Aumenta la síntesis de la fosfatidilcolina.
- Promueve la acumulación de fosfolípidos en el pulmón fetal.
- Estimula la incorporación de colina a los diglicéridos para formar FC.
- Aumenta la actividad de la enzima colinofosfotransferasa.

El glucocorticoide, al actuar directamente o a través de AMP cíclico, produce una serie de cambios anatómicos, funcionales y bioquímicos en el pulmón fetal, incrementando:

- La superficie alveolar útil para el intercambio gaseoso.
- El número de neumocitos II y las inclusiones osmiofílicas.
- La distensibilidad y la estabilidad a la deflación pulmonar.
- La cantidad de surfactante.
- La concentración y el grado de saturación de la FC. (Farell y Zachman, 1973)

En vacas se han utilizado numerosos corticoesteroides para influir sobre la maduración pulmonar fetal, tanto de acción rápida como de acción prolongada. Cuando se quiere o requiere inducir el parto en las 2 a 3 últimas semanas de la gestación se suele aplicar una inyección única de un corticoesteroide de acción rápida. La inducción médica del parto mediante inyección de corticoesteroides, a vacas durante las últimas 6 semanas de la gestación, ha planteado la discusión sobre la relación entre animales nacidos prematuramente y su resistencia a las enfermedades en los terneros neonatos (Blood y Radostitis, 1992).

Algunos estudios indican que la tasa de mortalidad de los terneros es superior a lo normal y que el nivel de inmunoglobulinas séricas en estos animales está disminuido, fundamentalmente porque los corticoesteroides dificultarían su absorción. Las muertes de terneros, nacidos tras partos inducidos, se producen principalmente por el hecho de ser pulmonarmente prematuros. Es imprescindible, al hacer inducción del parto en bovino, que esta no sea antes de los 270 días de gestación, tiempo en el que el feto va a tener una madurez pulmonar suficiente para su primera respiración en el medio exterior. Al nacer un ternero prematuro (bajo los 270 días de gestación),

este no ha sido capaz de completar la síntesis de surfactantes pulmonares por lo cual no está preparado para su primera respiración (Zaremba, 1996). Pérez y Pérez y Pérez (1999<sup>\*</sup>) indican que la inyección de corticoides antes del parto a fin de conseguir cierta normalidad en el mismo, mas que para su sincronización, podrían repercutir favorablemente en la madurez del feto reduciéndose la incidencia del síndrome de distress respiratorio (SDR).

Por otra parte, al inducir el parto, como efecto secundario la incidencia de retenciones de placenta puede llegar al 88% (Blood y Radostitis, 1992).

Zaremba y col (1997) afirman que la flumetasona por un lado y la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  análoga dinoprost por otro, estimulan la maduración pulmonar en fetos bovinos y disminuyen la incidencia del SDR en esta especie. Estos investigadores demostraron que los glucocorticoides actúan acelerando la maduración pulmonar, confirmando así resultados obtenidos en otras investigaciones realizadas en conejos, roedores, ovinos y en la especie humana.

La estimulación de la maduración pulmonar por  $\text{PGF}_{2\alpha}$  en fetos cercanos al nacimiento es tan efectiva como la producida por glucocorticoides. El mecanismo por el que la prostaglandina estimularía la maduración del pulmón fetal no está totalmente dilucidado, sin embargo, investigaciones realizadas *in vitro* han demostrado que la  $\text{PGF}_{2\alpha}$  estimularía directamente la incorporación de colina a la FC. (Zaremba y col, 1997)

En fetos humanos la influencia de la **prolactina** sobre la maduración pulmonar fue descrita en forma circunstancial mediante las observaciones clínicas descritas por Gluck y Kulovich (1973) y Smith y col (1980).

- El nivel sérico de prolactina aumenta notablemente cuando aparece el surfactante pulmonar
- El estrés aumenta igualmente la prolactina como la síntesis de las sustancias tensoactivas.
- El pulmón del recién nacido de sexo femenino maduró mas temprano que el de sexo masculino (las primeras tienen mas receptores para prolactina) al administrárseles prolactina.
- Los recién nacidos con niveles séricos elevados de prolactina en sangre del cordón umbilical raramente padecen de membrana hialina

Hamosh y Hamosh (1977) demostraron que la prolactina aumenta la cantidad de fosfolípidos, FC y fosfatidilcolina disaturada en el pulmón; gatilla la síntesis del surfactante, acelera la maduración y aumenta la distensibilidad pulmonar. Su acción la ejerce probablemente al regular la lipólisis y lipogénesis (Meier, 1977), la cual se efectúa en íntima relación con los corticoides (Rizzardini, 1980).

---

\*Pérez, J., F. Pérez y Pérez. 1999. Tocoginecología. En: [www.colvet.es](http://www.colvet.es)

En conejos la **tiroxina** igualmente acelera la maduración pulmonar (Wu y col, 1973), al aumentar la cantidad de surfactante y promover algunos cambios anatómicos que determinan mayor habilidad del pulmón para mantener una adecuada ventilación. A partir de las 32 semanas de gestación, en la especie humana, hay un aumento significativo de esta hormona en el suero del feto, aumento que es paralelo al del surfactante (Rizzardini, 1980).

Reeding y Pereira (1974) habían observado previamente que los niños con SDR tienen niveles plasmáticos de tiroxina mucho menores que los de la misma edad que no padecen de este trastorno. Estos investigadores especularon que la tiroxina acelera la actividad de múltiples enzimas, incluso las encargadas de la síntesis de la FC y disminuye la de FG en los neumocitos tipo II. Esta acción se ejerce por el aumento de la actividad de adenilciclase y por lo tanto la formación de AMP cíclico (Rizzardini, 1980). Este efecto de la tiroxina se produciría también tras inyección intraamniótica (Mashiach y col, 1978).

Otros estudios *in vitro* han demostrado que la **insulina** inhibe la estimulación de la síntesis de fosfolípidos pulmonares inducida por los glucocorticoides en fetos humanos (Smith y col, 1975). En el líquido amniótico de hijos de madre diabética existe un índice lecitina/esfingomielina (L/E) muy bajo, aun a las 34-35 semanas de gestación, el cual guarda una relación inversa con el nivel de insulina circulante. En los pulmones hay un aumento de los depósitos de glicógeno y una disminución franca de las inclusiones osmiofilicas (Draisey y col, 1977).

La administración de **17 beta estradiol** a hembras preñadas acelera la maduración pulmonar del feto. La FC aumenta cuatro veces, mientras la esfingomielina disminuye dos, elevando así el índice L/E y por lo tanto la calidad de las sustancias tensoactivas del pulmón (Khosla y Rooney, 1979., Chu y Rooney, 1985).

El mecanismo de acción de los **estrógenos** podría ser directo en el pulmón fetal o bien estimulando la secreción de prolactina. (Rizzardini, 1980). Esta hormona desencadenaría la maduración pulmonar y la síntesis de surfactante, especialmente en los fetos de sexo femenino donde existen, como ya dicho anteriormente, mas receptores para prolactina. Los andrógenos tienen efecto contrario (Rizzardini, 1980).

La **oxitocina** por si sola no parece acelerar la maduración pulmonar. (Rizzardini, 1980). Rooney y col (1977) creyeron encontrar cierta relación entre parto inducido con esta hormona y ausencia o disminución de SDR. Aparentemente el estrés del parto sería el responsable de la aceleración de la maduración pulmonar, lo cual estaría, a su vez, mediado por agentes hormonales como el corticoide y la prolactina (Rizzardini, 1980).

La inyección de **catecolaminas** (como adrenalina e isoxsuprina) en fetos ovinos, aumenta la cantidad de surfactante en el líquido traqueal. La pilocarpina y otras drogas colinérgicas (acetilcolina y carbasol) y adrenérgicas (isoproterenol), aumentan la estabilidad pulmonar y el índice L/E, estimulando la liberación de FC saturada desde los neumocitos tipo II (Rizzardini, 1980). Kero y col (1973) observaron una disminución de la frecuencia del SDR en recién nacidos cuyas madres reciben isoxsuprina. Aparentemente habría una interacción entre catecolaminas y glucocorticoides, que actuando en conjunto potenciarían su acción sobre la síntesis y liberación del surfactante (Boog y col, 1975). Cabe hacer notar que la isoxsuprina es un fármaco

ampliamente utilizado en la Obstetricia Bovina en Europa por su reducido costo la podría eventualmente transformar en una potencial posibilidad de uso en la inducción de parto de esta especie para mejorar la relación materno/fetal disminuyendo el tiempo de gestación (Saelzer, 2003\*).

---

\* Comunicación personal, Saelzer, P. 2003. Universidad Austral de Chile.

### **5.3. ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA MADURACIÓN PULMONAR.**

#### **5.3.1. Obtención de muestras de líquido amniótico de diferentes especies.**

Desde Hipócrates ha habido gran interés por conocer las funciones del líquido amniótico, pero solo en las últimas dos décadas su estudio ha desembocado en aplicaciones prácticas trascendentes que dan base a los procedimientos terapéuticos actuales (Meneghello y col, 1997)

En los animales domésticos debe distinguirse entre el líquido amniótico y el alantoideo, encontrándose siempre el feto nadando en el primero de ellos. La bolsa alantoidea, que contiene el líquido del mismo nombre, constituye la vejiga urinaria del feto y se ubica por fuera de la bolsa amniótica (Grunert y Ebert, 1999).

Estos líquidos son indispensables para la vida intrauterina y el parto. Protegen al feto de traumas, desecación y variaciones de temperatura, además le permiten moverse y crecer en todas direcciones. En cambio no tendrían importancia en relación a la nutrición. La ingestión de líquido amniótico solo permite preparar el aparato digestivo para su posterior función. Durante el parto desarrollan una acción dilatadora, actuando suavemente, amortiguando los golpes del feto sobre las partes duras del tracto materno. Después de la abertura de las membranas mantienen el conducto obstétrico lubricado, función especialmente a cargo del líquido amniótico facilitando el paso del feto. Además, poseen un efecto bactericida y una acción mecánica de limpieza. El líquido o mucus amniótico es el producto de la secreción del epitelio del amnios, al que en gestaciones avanzadas se agregan secreciones de las glándulas salivales y nasofaríngeas del feto, además de orina fetal (Grunert y Ebert, 1999).

La cantidad de estos líquidos depende de la especie animal y del desarrollo fetal, observándose también variaciones individuales. En la primera mitad de la gestación, generalmente predomina el líquido amniótico para disminuir posteriormente; en cambio el líquido alantoideo, con excepción del cerdo se va incrementando lentamente hasta el término de la gestación. En cuanto a la cantidad no se conoce un límite inferior que sea anormal, en cambio, de acuerdo con observaciones clínicas, se puede decir que cuando los líquidos fetales en conjunto, exceden en los bovinos los 25 litros y los 5 litros en los pequeños rumiantes, han sobrepasado el límite normal (Richter y Goetze, 1993).

La amniocentesis fue descrita por Schatz (1882), como posible tratamiento de polihidramnios y posteriormente se utilizó en el diagnóstico de la isoimmunización Rh en la especie humana. Bevis (1952) practicó, por primera vez, la amniocentesis, para determinar la relación entre el líquido amniótico, los niveles de bilirrubina, y la severidad de la anemia fetal en la enfermedad hemolítica Rh. Jeffcoat (1965) estudió el síndrome adrenogenital y señaló la utilidad del líquido amniótico para errores innatos del metabolismo.

Steele y Breg (1966) hicieron posible el cultivo de células fetales obtenidas por amniocentesis en el segundo trimestre de la gestación. Jacobson y Barter (1967) informaron del primer diagnóstico intrauterino de una anomalía cromosómica, y Valentín y Nadler (1968) recomendaron el diagnóstico prenatal del síndrome de Down, de la galactosemia y la mucopolisacaridosis, a

partir de la práctica de la amniocentesis transabdominal. Desde entonces se sigue utilizando esta técnica para el diagnóstico de algunas enfermedades en la especie humana, incluidas las genéticas (Díaz Martínez y col, 1997).

Estudios realizados en la especie humana han demostraron la facilidad e inocuidad de los procedimientos para obtener el líquido a través de la pared abdominal (amniocentesis). Se han multiplicado investigaciones bioquímicas, electroforéticas, espectrofotométricas, citológicas, etc., que se aplican fundamentalmente en la determinación de la edad gestacional (madurez) del feto humano pero cada vez más al diagnóstico de su condición de salud o enfermedad. En términos generales el estudio de este líquido puede inferirse a : madurez fetal, características individuales del feto y estados patológicos diversos tanto genéticos como ambientales (Díaz del Castillo, 1981). Según estudios realizados por Clements y col (1972) en la especie humana el líquido amniótico de la madre se puede obtener, ya sea por punción transabdominal del útero o transvaginal por amniocentesis.

A pesar del advenimiento de técnicas biofísicas de valoración fetoplacentaria, confiables y fácilmente reproducibles, la punción amniótica es insustituible en determinadas situaciones (Goodlin, 1964). Los dos grandes inconvenientes del procedimiento son su carácter invasor, que implica una serie de variados riesgos potenciales para la madre, el feto y la incidencia de fracaso en la obtención de una muestra adecuada para examen (Cederbaum y col, 1971., Cruikshank y col, 1983., Crane y Kopta, 1984). Dentro de los riesgos debe considerarse la posibilidad de punción de distintas estructuras nobles fetales, daños al cordón umbilical (laceraciones, hematomas) y traumatismo placentario (Ashkenazy y col, 1982., Romero y col, 1982., Lele y col, 1982., Williamson y col, 1984).

A partir de los estudios de Gluck y col (1971) se ha intentado predecir por muestras de líquido amniótico la madurez pulmonar fetal por un variado número de pruebas tanto bioquímicas como biofísicas. La mayoría se basa en la detección de alguno de los componentes del surfactante liberados al líquido amniótico por el pulmón fetal. También se han diseñado otras técnicas para el diagnóstico de la edad gestacional y de la madurez fetal. Corresponden a determinaciones bioquímicas de metabolitos que el feto excreta al líquido amniótico y cuya concentración se modifica con la edad gestacional o la madurez fetal (Sánchez y Donoso, 1999). Los procedimientos que tienen mayor relevancia para el diagnóstico de la edad gestacional y la madurez fetal son la ultrasonografía fetal y la determinación de los fosfolípidos pulmonares del feto en el líquido amniótico. La determinación de estos fosfolípidos en el líquido amniótico puede ser realizada, en la mujer, mediante amniocentesis o en el apósito vulvar en la ruptura prematura de las membranas fetales (Sánchez y Donoso, 1999).

Ashwood (1997) recomienda que en el humano las muestras de líquido amniótico sean recolectadas por amniocentesis, en una cantidad de por lo menos 10 ml, y sin contaminar. Durante la amniocentesis el lugar donde se puncione puede afectar el resultado de madurez pulmonar fetal ya que las concentraciones de surfactante pulmonar van a ser mayores en el fluido que rodea la boca del feto. Así, muestras de líquido amniótico obtenidas cerca de la cabeza fetal van a dar resultados distintos con relación a la madurez pulmonar que si las muestras son obtenidas en otro lugar. Muestras obtenidas del fornix vaginal después de la ruptura de membranas están comúnmente contaminadas con sangre, bacterias y mucus. Muestras obtenidas a nivel vaginal son



adecuadas solo cuando estas han permanecido en la vagina por poco tiempo y son refrigeradas inmediatamente después de la recolección. No obstante, es recomendable que siempre la muestra sea obtenida por amniocentesis, aunque haya habido ruptura de membranas ya que siempre quedan focos con líquido amniótico, que con la ayuda de ultrasonido se pueden visualizar y puncionar.

### 5.3.2. Determinación de la relación lecitina esfingomielina ( L/E).

El primer examen bioquímico usado para determinar madurez pulmonar antenatal fue la relación L/E descrita por Louis Gluck a principios de la década de 1970. En la actualidad la relación L/E sigue siendo el método más usado y se mantiene como referencia para la comparación con otras técnicas. Sin embargo para determinar la relación L/E se utiliza la técnica de la cromatografía bidimensional en capa delgada, la cual es una técnica de alto costo, tiempo y capacitación (Stuart, 1998). Esta relación se basa en una cantidad relativamente constante de esfingomielina comparada con un aumento progresivo de lecitina (fosfatidilcolina) en líquido amniótico a medida que avanza la gestación. La esfingomielina medida en líquido amniótico es un lípido de membrana que no guarda relación con la maduración pulmonar del feto. La lecitina, la cual en el líquido amniótico proviene mayoritariamente (aunque no en forma exclusiva) del pulmón fetal, comienza a aumentar en el último tercio de la gestación (Meneghello y col, 1997., Torres y Maturana, 2000).

Se sabe que la lecitina describe una curva creciente durante la gestación, para acelerar notablemente en las últimas semanas. Como la esfingomielina disminuye progresivamente sus valores a medida que progresa la gestación, el cociente de ambos en una preñez normal es igual o debería superar un valor de 2 y este hecho coincide con una suficiente cantidad de surfactante como para asegurar la madurez pulmonar en el feto (Wijnberger y col, 2001).

Las muestras de líquido amniótico que se encuentran contaminadas con sangre, cambian las cifras por el contenido adicional que aportan los fosfolípidos que existen en el plasma, de tal forma que los resultados de la relación L/E no serían los reales (Jasso, 2000\*).

La contaminación con meconio de las muestras de líquido amniótico y sus efectos en la relación L/E han sido reportadas en la literatura con conclusiones diferentes. En 1972 Kulkarni y col describieron un falso incremento en la relación L/E cuando un 10% de una solución de meconio fue añadida a la muestra de líquido amniótico. Esta conclusión fue corroborada más tarde por Wagstaff y col (1974) los que observaron una elevación consistente de la relación L/E al incrementar progresivamente las concentraciones de meconio. Al contrario, Buhi y Spellacy (1975) afirmaron que al aumentar la contaminación con meconio disminuye la relación L/E. Sherri y col (1998) demostraron que el efecto del meconio en la relación L/E es variable. Por ello se aconseja no procesar muestras de líquido amniótico contaminadas con meconio o sangre, ya que el meconio produce falsos positivos de madurez pulmonar y la sangre disminuye el índice L/E (Sánchez y Donoso, 1999). En caso de que la muestra se contamine, esta debería ser analizada con la medición de FG y no con el índice L/E (Sherri y col, 1998).

---

\*Jasso, L. 2000. Diagnóstico de maduración pulmonar. En: [www.drscope.com](http://www.drscope.com)

### 5.3.3. Determinación de fosfatidilglicerol.

La determinación del FG en el líquido amniótico es muy importante, debido a que la función de este fosfolípido es estabilizar la molécula de lecitina en la interfase aire/líquido en la superficie del alvéolo pulmonar. El resultado en la medición de este fosfolípido siempre debe ser informado junto con la relación L/E, ya que su presencia se asocia a madurez pulmonar del feto humano cuando el índice L/E es inferior a 2. La contaminación del líquido amniótico con sangre o meconio, ya sea obtenido por amniocentesis o desde un apósito vulvar, no altera la interpretación de los resultados, aunque sí lo hace la contaminación de la muestra por bacterias (Sánchez y Donoso, 1999). Según Stuart (1998) muestras de líquido amniótico tomadas ya sea de la vagina o mediante amniocentesis en presencia de amnionitis pueden dar una falsa determinación de FG por la presencia de algunas bacterias. Según Schumacher y col (1985) ciertas bacterias sintetizan FG y de esta manera causan falsos positivos en los test de madurez pulmonar. Este autor reporto que la *E. coli* en el líquido amniótico puede producir FG y, de esta manera, puede ser potencialmente causa de un resultado falsamente positivo.

El FG parece ser uno de los componentes del surfactante que marcan el inicio de madurez pulmonar mas avanzada en el feto. Su determinación en líquido amniótico ha sido usada para mejorar la precisión en el diagnóstico prenatal de madurez pulmonar. Cuando aparece FG en líquido amniótico menos del 1% de los recién nacidos desarrollan membrana hialina. En contraposición, hasta un 83% de aquellos que no tienen niveles detectables de este fosfolípido en el líquido amniótico pueden desarrollar esta enfermedad (Meneghello y col, 1997). Como prueba cuantitativa se considera positiva, y por lo tanto como evidencia de madurez pulmonar, cuando la concentración del FG en líquido amniótico es de 2 micromoles por litro. Para su determinación se utiliza la técnica de la cromatografía bidimensional en capa delgada (Jasso, 2000). Como desventaja este método tiene su alto costo y esta limitada su ejecución a laboratorios especializados (Fakhoury y col, 1994).

Wendell y Ashwood (1994) establecieron un método enzimático colorimétrico para determinar FG el cual era mas sencillo, de menor costo y arrojaba resultados cuantitativos comparables con las técnicas cromatográficas utilizadas para su determinación con anterioridad.

### 5.3.4. Determinación de cuerpos lamelares en líquido amniótico.

La relación L/E como ya mencionado anteriormente, es uno de los métodos mas usados para la predicción de madurez pulmonar del feto. Aunque es una prueba fiable, tiene como inconvenientes su alto costo, larga duración del examen y no estar disponible universalmente. Otras instituciones han incorporado la medición de FG, pero tiene los mismos inconvenientes que la relación L/E en su costo y tiempo del examen; además requiere de personal altamente capacitado (Pamela y col, 1999).

El recuento de cuerpos lamelares fue descrito por Dubin en 1989. Los cuerpos lamelares son secretados por los neumocitos tipo II y tienen un diámetro alrededor de 1 a 5  $\mu\text{m}$ . Su determinación es fácil, rápida y no requiere mas instrumentación especial que un contador automatizado de partículas usado en laboratorios para la cuantificación de plaquetas, cuyo tamaño es similar al de

los cuerpos lamelares (Dubin, 1989., Fakhoury y col, 1994). DeRoche y col (2002) afirman que este método tiene como ventaja que el recuento de cuerpos lamelares puede ser obtenido rápidamente con solo 0,5 ml de líquido amniótico. La unidad de medida es el número de cuerpos lamelares por microlitro de líquido amniótico (Pamela y col, 1999).

Wijnberger y col (2001) afirman que en el humano un recuento menor a 8000/uL casi asegura una inmadurez bioquímica del pulmón fetal; al contrario un recuento de cuerpos lamelares sobre los 32000/uL virtualmente garantizaría la madurez bioquímica del pulmón fetal.

### **5.3.5. Test de Clements.**

Este método constituye una forma rápida (menos de 30 minutos) de determinar la madurez pulmonar fetal. Se basa en la propiedad biofísica de que una cantidad suficiente de surfactante pulmonar presente en el líquido amniótico genera una capa de burbujas estable en la interfase aire/líquido, cuando se agita en presencia de etanol. Si el anillo de burbujas permanece más de 15 minutos, el riesgo de inmadurez pulmonar es bajo. Aunque se sigue usando en la práctica clínica debido a su simplicidad y bajo costo, este método tiene un gran número de falsos negativos por lo que en presencia de un test negativo se debe recurrir a otros métodos más específicos como la relación L/E (Meneghello y col, 1997).

### **5.3.6. Fosfatidilcolina.**

La determinación directa en líquido amniótico de FC disaturada, el mayor componente activo del surfactante, no ha demostrado ser superior a la relación L/E en su capacidad para predecir riesgo de enfermedad de membrana hialina (Jasso, 2000).

Se han estudiado otras pruebas entre las que cabe mencionar la determinación de las proteínas SP-A y SP-B del surfactante; sin embargo, no se ha demostrado que puedan ser superiores en su sensibilidad y especificidad a las mencionadas previamente (Torres y Maturana, 2000).

### **5.3.7. Enfermedad de membrana hialina o síndrome de distress respiratorio.**

En 1975 Johnson y Meyer describieron hallazgos histológicos en 8 neonatos que murieron por insuficiencia respiratoria, más tarde llamada síndrome de distress respiratorio del prematuro. Esta entidad patológica se asocia con un déficit de surfactante, sustancia tensoactiva segregada por los neumocitos tipo II y que se halla relacionada directamente con el origen de la enfermedad. La presencia de cantidades adecuadas de material tensoactivo para revestir los espacios aéreos es uno de los prerrequisitos para la adaptación pulmonar neonatal; este material es capaz de mantener la estabilidad alveolar con presiones bajas, de manera que no se produzca el colapso alveolar al final de la expiración (Acosta y col, 2000b).

Las complicaciones que se observan en los recién nacidos pretermino son múltiples y diferentes autores han señalado que la enfermedad de membrana hialina (EMH), es consecuencia directa de la inmadurez pulmonar. Otras complicaciones son la hemorragia intraventricular, la enterocolitis necrotizante, la displasia broncopulmonar, la infección, la persistencia del conducto

arterioso y la retinopatía del prematuro, que se presenta con frecuencia variable en este tipo de pacientes.

La EMH es la causa más frecuente de síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido pretermino y constituye el problema más común en un servicio de neonatología, y la principal causa de mortalidad, pues ocurre en el 0,5 a 1 1 % de todos los nacimientos en la especie humana (García y col, 2001).

La EMH, conocida también como síndrome de distress respiratorio en el recién nacido, es conocida desde los inicios de la neonatología humana. Al ser, como ya dicho, una de las principales causas de muerte en los prematuros ha sido objeto prioritario de muchas investigaciones en el área perinatal. Esto llevó, con los años, a buscar diferentes tratamientos como el uso de presión positiva continua, formas apropiadas de ventilación mecánica con uso de presión positiva de fin de expiración y un adecuado manejo de la administración de líquidos que evite la retención hídrica y el aumento de líquido pulmonar. En los últimos años el avance más notable es el uso de surfactante exógeno, tratamiento relativamente simple, que en un alto porcentaje de los casos hace abortar el curso progresivo de la enfermedad cuando es administrado precozmente (Meneghello y col, 1997., Sánchez y Donoso, 1999).

Aunque el término SDR se ha utilizado para describir una serie de condiciones que pueden producir insuficiencia respiratoria en el recién nacido, actualmente se prefiere incluir bajo esta designación solo aquellos casos de dificultad respiratoria producida por insuficiente cantidad de surfactante pulmonar. Debido a que las manifestaciones clínicas de este cuadro son inespecíficas y la medición del surfactante en el pulmón no se realiza en forma rutinaria, muchos pacientes con insuficiencia respiratoria producida por otras causas, pueden ser diagnosticadas por error como SDR (Meneghello y col, 1997).

Esta forma de asfixia, debida a inmadurez del pulmón, se desarrolla en las primeras horas de vida. Su frecuencia es indirectamente proporcional con el tiempo de gestación, observándose en terneros con gestación menor a 270 días en bovinos o potrillos con gestación menor a 320 días. El recién nacido nace aparentemente sano pero, como regla general, los neonatos presentan signos de inmadurez ( pelo corto, especialmente en la región umbilical, erupción dentaria menor a seis incisivos). Inmediatamente después del parto no se observa alteración alguna, pero en el transcurso de las primeras horas de vida se presentan dificultades respiratorias en forma creciente (disnea inspiratoria, quejidos espiratorios) 10 a 30 minutos post nacimiento presentan trastornos respiratorios como consecuencia de falta de surfactante. Al faltar este elemento de actividad tensoactiva, como sucede en el caso de un parto prematuro, colapsan los alvéolos después de la expiración y en la inspiración siguiente solo pueden desplegarse parcialmente. Se producen atelectasias y zonas pulmonares enfisematosas debido a hiperventilación compensatoria. En casos graves se comprueban edemas y membranas hialinas en los alvéolos (Grunert y Ebert, 1999). Si el colapso alveolar consecuente es masivo, se produce también insuficiencia ventilatoria con hipercapnea que se acrecienta por una fatiga de los músculos respiratorios. La hipoxemia y acidosis aumentan la resistencia vascular pulmonar, lo que agrava aun más el cuadro (Ventura y Tapia, 2002).

A pesar de aceptar que el déficit de surfactante es el elemento clave, hay otros factores de desarrollo y mala adaptación fisiológica que interactúan con el primero y llevan a una falla respiratoria clínica, tales como un desarrollo inadecuado de la vía aérea y alveolar que impide la ventilación y el intercambio gaseoso, inadecuada rigidez de la pared torácica y musculatura diafragmática e inmadurez de los mecanismos de control respiratorio (Fernández y col, 1995).

Al realizar la necropsia de una animal que tuvo signos evidentes de EMH, se encontrará el pulmón con una coloración rojo violáceo intensa y una consistencia parecida a la del hígado. Microscópicamente, se observa una extensa atelectasia con congestión de los capilares interalveolares y dilatación de los vasos linfáticos. Muchos conductos alveolares, alvéolos y bronquiolos respiratorios están revestidos por membranas acidofílas, homogéneas o granulosas. Otros hallazgos adicionales, aunque inconstantes, son restos amnióticos, hemorragia intraalveolar y enfisema intersticial (Waldo, 1987).

## 6. DISCUSIÓN

De las especies domésticas, la vaca es la que requiere mas a menudo de intervención o asistencia al momento del parto por problemas de distocia . Las distocias en esta especie se pueden presentar por muy diversas causas pero la más frecuente está dada por la desrelación materno-fetal (Grunert y Ebert, 1999).

El crecimiento del feto bovino en los últimos meses de gestación aumenta mucho llegando a valores de 600 gr. diarios en el ultimo período de la gestación . Tomando en cuenta el alto porcentaje de distocias por desrelación materno-fetal y los conocimientos que se tiene del gran crecimiento fetal al termino de la preñez, se ha ideado como medida preventiva la inducción mas temprana del parto mediante fármacos como los corticoides o prostaglandina  $F_{2\alpha}$ , entre otros. El objetivo de esta inducción del parto es acortar el tiempo de gestación con el objetivo de disminuir el tamaño del feto con lo que se mejora la relación materno-fetal (Derivaux y Ectors, 1984). El mayor inconveniente que se tiene al acortar el tiempo de gestación, es el nacimiento de terneros prematuros, en los cuales no se llega a finalizar la maduración pulmonar y como consecuencia de esto hay una falta de producción de surfactantes (Zaremba, 1996).

Los surfactantes pulmonares, como se ha visto, son agentes tensoactivos que impiden el colapso alveolar en el momento del nacimiento. Según Cunningham (1999) la composición del surfactante pulmonar es similar en las diferentes especies, siendo una mezcla de lípidos y proteínas. No obstante parece haber diferencias entre las especies domésticas y el ser humano en relación al tiempo de gestación necesario para asegurar una completa maduración pulmonar. Según Rizzardini (1980) lo mas significativo en la maduración pulmonar en la especie humana es el aumento de la concentración de la FC a medida que avanza la gestación, de tal manera que es total cuando la gestación ha completado el 90 % de su tiempo. Según Pérez y Pérez y Pérez (1999) la inducción del parto debe practicarse en vacas con un tiempo de gestación, como mínimo, de 270 días, a fin de hacer coincidir el parto con la madurez tanto materna como fetal, por lo tanto hay una diferencia clara entre las especies domesticas y la especie humana, ya que, a los 252 días de gestación el feto bovino está totalmente inmaduro y con seguridad presentará un cuadro de insuficiencia respiratoria por falta de surfactantes pulmonares.

Hay que recordar que años atrás en la especie humana no se pensaba posible las vida de neonatos con pesos bajo los 2500 gr. Hoy en día, con el avance de la tecnología, principalmente técnicas como el uso de presión positiva continua, formas apropiadas de ventilación mecánica con uso de presión positiva de fin de expiración, un adecuado manejo de la administración de líquidos que evite la retención hídrica y el aumento de liquido pulmonar y mas reciente el uso de surfactante exógeno ha sido posible salvar la vida de neonatos con pesos bajo los 1500 gr. al nacimiento (Meneghello y col, 1997., Sánchez y Donoso, 1999) e incluso menores a 1 Kg. Posiblemente esta tecnología podría ser una herramienta en la Medicina Veterinaria como tratamiento de neonatos con inmadurez pulmonar. El problema emergente es sin embargo el alto costo de estas tecnologías en los animales domésticos.

El uso de fármacos para inducir la maduración pulmonar ha sido muy estudiado, principalmente en la especie humana. Al parecer, la intervención más estudiada para inducir madurez pulmonar fetal es la administración antenatal de corticoides a la madre (Acosta y col, 2000a). En Medicina Veterinaria, como se dijo anteriormente, los corticoides son utilizados principalmente en la inducción del parto, pero estudios más recientes han demostrado que estos fármacos estimularían la maduración pulmonar en las especies domésticas. Es así como Zaremba y col (1997) afirman que la flumetasona estimula la maduración pulmonar en fetos bovinos disminuyendo la incidencia del síndrome de distress respiratorio en esta especie.

Parece haber diferencias en la fisiología pulmonar en lo relacionado a la síntesis de surfactantes pulmonares entre las especies domésticas y la especie humana. En la especie humana los corticoides se utilizan de manera preventiva a partir de las 26 semanas de gestación para estimular la maduración pulmonar y síntesis de surfactantes, a diferencia de la vaca, en la cual se sabe que los corticoides entre los 150 y 250 días son abortivos (El Manual Merck, 2000). Además se aprecian diferencias en el efecto que tienen los corticoides en diferentes especies domésticas: en la vaca con solo 10 mg de flumetazona a partir de los 270 días de gestación se va a inducir el parto, a diferencia de la yegua que para inducir parto a partir de los 320 días, es necesario inyectar 100 mg de dexametazona diarios por 4 días seguidos de 40 UI de oxitocina (El Manual Merck, 2000).

Otro fármaco utilizado en los bovinos para inducir aborto y parto es la  $PGF_{2\alpha}$  análoga dinoprost, la cual según Zaremba y col (1997) estimula la maduración pulmonar en fetos bovinos.

El inconveniente que presentan estos fármacos son su efecto abortivo, por lo cual no pueden ser utilizados como inductores de la maduración pulmonar y síntesis de surfactantes antes de los 270 días de gestación en el bovino. Por lo anterior es de gran interés el conocer o buscar otras alternativas que influyan positivamente sobre la maduración pulmonar del feto bovino. Hay estudios que indican que la prolactina estimularía la maduración pulmonar (Hamosh y Hamosh, 1977). Estos autores demuestran que la prolactina aumenta la cantidad de fosfolípidos, FC y fosfatidilcolina disaturada en el pulmón; gatilla la síntesis del surfactante, acelera la maduración y aumenta la distensibilidad pulmonar en fetos de conejo.

La tiroxina según Wu y col (1973) y Rizzardini (1980) igualmente acelera la maduración pulmonar en fetos de conejo, aumenta la cantidad de surfactante y promueve algunos cambios anatómicos que determinan mayor habilidad del pulmón para mantener una adecuada ventilación.

Khosla y Rooney (1979) sostienen que la administración de 17 beta estradiol a hembras preñadas acelera la maduración pulmonar del feto y Kero y col (1973) y Rizzardini (1980) afirman que la administración parenteral de catecolaminas como adrenalina o isoxsuprina en fetos ovinos, aumentan la cantidad de surfactante en el líquido traqueal. La pilocarpina y otras drogas colinérgicas (acetilcolina y carbasol) y adrenérgicas (isoproterenol), aumentan la estabilidad pulmonar.

La obtención de líquido amniótico por amniocentesis en la mujer constituye una técnica, se puede decir, rutinaria. Por el contrario en Medicina Veterinaria son muy pocos los estudios a este

respecto. Uno de los inconvenientes es la disposición del tracto reproductivo de la hembra doméstica gestante que difiere significativamente de la especie humana: el amnios está rodeado por el alantoides, lo cual dificulta la punción del primero. El salvar el “obstáculo” alantoideo para la punción amniótica parece difícil, sin embargo, con el uso de la ecografía y endoscopia parece posible que el amnios pueda ser puncionado desde el exterior o transvaginalmente, lo que podría ser una posible continuación de este trabajo de Revisión Bibliográfica introductoria.

La prevención del síndrome de distress respiratorio en la Obstetricia Veterinaria con ese eventual logro (punción de amnios) podría pasar a ser una valiosa herramienta para disminuir la mortalidad neo y perinatal que en todo el mundo sigue siendo muy alta, particularmente tras distocias de origen materno y fetal que se ha logrado controlar, en parte, mediante la inducción de parto mas temprana mejorando la relación de peso Materno : Fetal. Por ello el presente trabajo es solo una introducción hacia una línea de investigación compleja que se pretende iniciar en el Instituto de Reproducción Animal de esta Universidad.



## 7. CONCLUSIONES

1.- Los estudios para determinar maduración pulmonar en el bovino y también en otras especies domésticas, presentan la dificultad de la disposición del alantoides alrededor del amnios, membrana fetal que contiene los surfactantes eliminados desde el pulmón fetal, que hacen posible justamente la maduración pulmonar ya aludida.

2.- En la especie humana la inducción de maduración pulmonar fetal se ha practicado con corticoides inyectados a la madre. Esta práctica es inaplicable en el bovino, por ejemplo, ya que estos corticoides (betametazona, dexametazona, flumetazona, entre otros) son inductores del parto o aborto sin alcanzarse, por el breve tiempo de acción, una maduración pulmonar. Dado que en la especie humana la inyección de corticoides a la madre se puede practicar desde las 26 semanas de embarazo, con lo que el efecto madurador se consigue.

3.- Se describe como madurador pulmonar en conejos a la tiroxina y  $17\beta$  estradiol, catecolaminas como isoxuprina en fetos ovinos, sin embargo estos fármacos y hormonas no han sido ensayadas en bovinos.

4.- El avance más notable de los últimos años en el tratamiento del síndrome de distress respiratorio (inmadurez pulmonar) en los recién nacidos humanos, es el uso de surfactantes exógenos, los cuales son extraídos por lavado pulmonar de cerdos y bovinos e instilados al sistema respiratorio del neonato prematuro. Ello podría ser una aplicación en Medicina Veterinaria a futuro.

5.- Se concluye finalmente que tanto la determinación de la maduración pulmonar y del efecto madurador inducido por otros fármacos, tiene como limitante la obtención de líquido amniótico del animal preñado, ya que la metódica para determinar el índice lecitina/esfingomielina y fosfatidilglicerol, componentes del surfactante pulmonar, ya está solucionado en la Medicina Humana y lo que interesaría en Medicina Veterinaria es la determinación seriada de estos componentes del surfactante para establecer fechas de inducción de parto con fetos pulmonarmente maduros.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

**ABDELLATIF, M., M. HOLLINGSWORTH. 1980.** Effect of oxotremorine and epinephrine on lung surfactant secretion in neonatal rabbits. *Pediatr. Res.* 14: 916-920

**ACARREGUI, M., J. SNYDER, M. MITCHEL, C. MENDELSON. 1990.** Prostaglandines regulate surfactant protein A (SP-A) gene expression in human fetal lung in vitro. *Endocrinol.* 127: 1105-1113

**ACOSTA, R., J. ARRONTE, N. CABRERA. 2000b.** Evaluación del Surfacén en el síndrome de dificultad respiratoria del prematuro. *Rev. Cubana. Pediatr.* 72: 287-294

**ACOSTA, R., M. VALDÉS, M. PORTAL. 2000a.** Prematuridad extrema y uso materno de corticoides antenatal. *Rev. Cubana Pediatr.* 72: 281-286

**ARENAS, G. 1985.** Ontogenia del surfactante pulmonar. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 50: 72-78

**ASHKENAZY, M., R. BORENSTEIN, Z. KATZ, M. SAGAL. 1982.** Constriction of the umbilical cord by an amniotic band after midtrimester amniocentesis. *Acta Obstet. Ginecol. Scand.* 61: 89-91

**ASHWOOD, E. R. 1997.** Standards of laboratory practice: evaluation of fetal lung maturity. *Clin. Chem.* 43: 211-214

**AVERY, M., MEAD, J. 1959.** Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. En: ARENAS, G. 1985. Ontogenia del surfactante pulmonar. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 50: 72-78

**BAYBUTT, R., J. SMITH, M. GILLESPIE, T. NEWCOMB, Y. YEH. 1994.** Arachidonic acid and eicosapentaenoic acid stimulate type II pneumocyte surfactant secretion. *Lipids* 29: 535-539

**BEVIS. 1952.** Original no disponible. En: DÍAZ MARTÍNEZ, G., M. VALDÉS, A. DALMAU. 1997. Antecedentes y actualidades en el diagnóstico prenatal. *Rev. Cubana. Obstet. Ginecol.* 23: 25-30

**BLOOD, D. C., O. M. RADOSTITIS. 1992.** Medicina Veterinaria. 7ª ed. Editorial Interamericana-McGraw-Hill S.A., México

**BOGGARAM, V., M. SMITH, C. MENDELSON. 1989.** Regulation of expression of the gene encoding the mayor surfactant protein (SP-A) in human fetal lung in vitro – disparate effects of glucocorticoids on transcription and on messenger RNA stability. *J. Biol. Chem.* 264: 11421-11427

**BOOG, G., M. BRAHIM, R. GANDAR. 1975.** Beta-mimetic drugs and possible prevention of respiratory distress syndrome. *Br. J. Obstet. Gynaecol.* 82: 285-288

**BROWN, L., L. WOOD. 1989.** Stimulation of surfactant secretion by vasopresin in primary cultures of adult rat type II pneumocytes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1001: 76-81

**BUHI, W., W. SPELLACY. 1975.** Effects of blood or meconium on the determination of the amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 121: 321-323

**CEDERBAUM, S., G. HOLZMAN, R. SPARKES. 1971.** "Spontaneous" abortion and haemorrhage following attempted amniocentesis in a carrier of haemophilia A. *Lancet.* 2: 429-430

**CHU, A., S. ROONEY. 1985.** Estrogen stimulation of surfactant synthesis. *Pediatr. Pulmonol.* 1: 110-114

**CLEMENTS, J., A. PLATZKER, D. TIERNEY, C. HOBEL, R. CREASY, A. MARGOLIS, D. THIBEAULT, W. TOOLEY, W. Oh. 1972.** Assessment of the risk of the respiratory-distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. *N. Engl. J. Med.* 286: 1077-1081

**CORBET, A., J. CREGAN, J. FRINK, A. RUDOLPH. 1983.** Distention-produced phospholipid secretion in postmortem in situ lungs of newborn rabbits. Inhibition by specific beta-adrenergic blockade. *Am. Rev. Respir. Dis.* 128: 695-701

**CRANE, J., M. KOPTA. 1984.** Genetic amniocentesis. Impact of placental position upon the risk of pregnancy loss. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 150: 813-816

**CRUIKSHANK, D., M. VARNER, J. CRUIKSHANK, S. GRANT, E. DONNELLY. 1983.** Midtrimester amniocentesis. An analysis of 923 cases with neonatal follow-up. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 146: 204-211

**CUNNINGHAM, J. G. 1999.** Fisiología veterinaria. 2<sup>a</sup> ed. Editorial Interamericana·McGraw-Hill. S.A. México.

**CHANDER, A. 1989.** Regulation of lung surfactant secretion by intracellular pH. *Am. J. Physiol.* 257: 354-360

**CHANDER, A., J. REICHERTER, A. FISHER. 1984.** An ethanol/ether soluble apoprotein from rat lung surfactant augments liposome uptake by isolated granular pneumocytes. *J. Clin. Invest.* 74: 677-684

**CHANDER, A., W. CLAYPOOL, J. STRAUSS, A. FISHER. 1983.** Uptake of liposomal phosphatidylcholine by granular pneumocytes in primary cultured. *Am. J. Physiol.* 245: 397-404

**DANLOIS, F., S. ZALTASH, J. JOHANSSON, B. ROBERTSON, H. P. HAAGSMAN, F. ROLLIN. 2003.** Pulmonary surfactant from healthy Belgian White and Blue and Holstein Friesian calves: Biochemical and Biophysical comparison. *Vet. J.* 165: 65-72

**DERIVAUX, J., F. ECTORS. 1984.** Fisiopatología de la gestación y obstetricia veterinaria. Editorial Acribia S.A., Zaragoza.

**DeROCHE, M., C. INGARDIA, P. GUERETTE, A. WU, C. LaSALA, S. MANDAVILLI. 2002.** The use of lamellar body counts to predict fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *Amer. J. Obstet. Gynecol.* 187: 908-912

**DIAZ ATENCIO, V. 1992.** Surfactante pulmonar: Morfología y Fisiología. *Rev. Pediatría (Santiago)* 35: 145-151

**DIAZ DEL CASTILLO, D. 1981.** Perinatología. 2ª ed. Editorial Interamericana·McGraw-Hill S.A., México.

**DÍAZ MARTÍNEZ, G., M. VALDÉS, A. DALMAU. 1997.** Antecedentes y actualidades en el diagnóstico prenatal. *Rev. Cubana. Obstet. Ginecol.* 23: 25-30

**DOBBS, L., J. WRIGHT, S. HAWGOOD, R. GONZALEZ, K. VENSTROM, J. NELLENBOGEN. 1987.** Pulmonary surfactant and its components inhibit secretion of phosphatidylcholine from cultured rat alveolar type II cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84: 1010-1014

**DRAISEY, T., G. GAGNEJA, R. THIBERT. 1977.** Pulmonary surfactant and amniotic fluid insulin. *Obstet. Gynecol.* 50: 197-199

**DUBIN, S. 1989.** Characterization of amniotic fluid lamellar bodies by resistive-pulse counting: Relationship to measures of fetal lung maturity. *Clin. Chem.* 35: 612-616

**EL MANUAL MERCK DE VETERINARIA. 2000.** 5ªed. Editorial Océano S.A. Barcelona.

**EPSTEIN, M., P. FARRELL. 1975.** The choline incorporation pathway: primary mechanism for de novo lecithin synthesis in fetal primate lung *Pediat. Res.* 9: 658-665

**FAKHOURY, G., N. DAKOKU, J. BENSER, N. DUBIN. 1994.** Lamellar body concentrations and the prediction of fetal pulmonary maturity. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 170: 72-76

**FARRELL, P., R. ZACHMAN. 1973.** Corticosteroids as primary therapeutic agents in respiratory distress syndrome (RDS). *Pediatrics.* 51: 952-955

**FARRELL, P., M. HAMOSH. 1978.** The biochemistry of fetal lung development. *Clin. Perinatol.* 5: 197-229

**FERNANDEZ, R., P. MENA, M. HBNER. 1995.** Síndrome de dificultad respiratoria. *Revista Chilena de Pediatría*. 66: 286-288

**GARCÍA, R., D. PEREZ VALDES, M. LUGONES, A. LAY. 2001.** Betametasona como madurante pulmonar fetal: Influencia sobre el embarazo y el parto. *Rev. Cubana. Obstet. Ginecol.* 27: 76-82

**GILFILLAN, A., S. ROONEY. 1985.** Arachidonic acid metabolites stimulate phosphatidylcholine secretion in primary cultures of type II pneumocytes. *Biochim. Biophys Acta.* 833: 336-341

**GLUCK, L., M. KULOVICH. 1973.** Fetal lung development. Current concepts . *Pediatr.Clin. North Am.* 20: 367-379

**GLUCK, L., M. KULOVICH, R. BORER, P. BRENNER, G. ANDERSON, W SPELLACY. 1971.** Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. *Amer. J.Obstet.Gynecol.* 109: 440-445

**GOBRAN, L., S. ROONEY. 1990.** Adenosine A1 receptor-mediated inhibition of surfactant secretion in rat type II pneumocytes. *Am. J. Physiol.* 258: 45-51

**GOODLIN, R. 1964.** Diagnostic abdominal amniocentesis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 88: 1090

**GRIESE, M., L. GOBRAN, S. ROONEY. 1991.** Surfactant lipid uptake and secretion in type II cells in response to lectins and secretagogues. *Am. J. Physiol.* 261: 434-442

**GRUNERT, E., J. EBERT. 1999.** Obstetricia del bovino. 2ª ed. Editorial Graphika Copy Center, Santiago.

**HALLMAN, M., B. EPSTEIN, L. GLUCK. 1981.** Analysis of labeling and clearance of lung surfactant phospholipids in rabbit. Evidence of bidirectional surfactant fluxes between lamellar bodies and alveolar lavage. *J. Clin. Invest.* 68: 742-751

**HAMOSH, M., P. HAMOSH. 1977.** The effect of prolactin on the lecithin content of fetal rabbit lung. *J. Clin. Invest.* 59: 1002-1005

**IKEGAMI, T., A. TSUDA, A. KARUBE, H. KODAMA, H. HIRANO, T. TANAKA. 2000.** Effects of intrauterine IL-6 and IL-8 on the expresión of surfactant apoprotein mRNAs in the fetal rat lung. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 93: 97-103

**INGENITO, E. P., L. MARK, J. MORRIS, F. F. ESPINOSA, R. D. KAMM, M. JOHNSON. 1999.** Biophysical characterization and modeling of lung surfactant components. *J. Appl. Physiol.* 86: 1702-1714

- JACOBS, H., A. JOBE, M. IKEGAMI, D. CONAWAY. 1983.** The significance of reutilization of surfactant phosphatidylcholine. *J. Biol. Chem.* 258: 4159-4165
- JACOBSON, C., R. BARTER. 1967.** Intrauterine diagnosis and management of genetic defects. En: DIAZ MARTINEZ, G., M. VALDES, A. DALMAU. 1997. Antecedentes y actualidades en el diagnóstico prenatal. *Rev. Cubana Obstet. Ginecol.* 23: 25-30
- JEFFCOAT. 1965.** Original no disponible. En: DÍAZ MARTÍNEZ, G., M. VALDÉS, A. DALMAU. 1997. Antecedentes y actualidades en el diagnóstico prenatal. *Rev. Cubana. Obstet. Ginecol.* 23: 25-30
- JOHANSSON, J., T. CURSTEDT. 1997.** Molecular structures and interactions of pulmonary surfactant components. *European J. Biochem.* 244: 675-693
- JOHNSON, W., J. MEYER. 1975.** A Study of Pneumonia in the stillborn a newborn. En: ACOSTA, R., J. ARRONTE, N. CABRERA. 2000. Evaluación del Surfacén en el síndrome de dificultad respiratoria del prematuro. *Rev. Cubana. Pediatr.* 72: 287-294
- KERO, P., T. HIRVONEN, L. VALIMAKI. 1973.** Prenatal and posnatal isoxsuprine and respiratory-distress syndrome. *Lancet.* 2: 198
- KHOSLA, S., S. ROONEY. 1979.** Stimulation of fetal lung surfactant production by administration of 17 beta-estradiol to the maternal rabbit. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 133: 213-216
- KULKARNI, B., J. BIENIARZ, L. BURD, A. SCOMMEGNA. 1972.** Determination of lecithin-sphingomyelin ratio in amniotic fluid. *Obstet. Gynecol.* 40: 173-179
- KUMAR, R., K. HEDGE. 1983.** Influence of thyroid hormone on the phospholipid composition of lung tissue and surfactants of rats. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* 27: 203-208
- KUROKI, Y., R. MASON, D. VOELKER. 1988.** Chemical modification of surfactant protein. A alters high affinity binding to rat alveolar type II cells and regulation of phospholipid secretion. *J. Biol. Chem.* 263: 17596-17602
- LELE, A., P. CARMODY, M. HURD, J. OLEARY. 1982.** Fetomaternal bleeding following diagnostic amniocentesis. *Obstet. Gynecol.* 60: 60-64
- LILEYT, G. H., S. HAWGOOD, A. WELLENSTEIN, B. BENSON, R.T. WHITE, P. BALLARD. 1987.** Surfactant protein of molecular weight 28,000-36,000 in cultured human fetal lung: cellular localization and effect of dexamethasone. *Mol. Endocrinol.* 1: 205-215

- MASHIACH, S., G. SACK, E. STERN, B. GOLDMAN, M. BRISH, D. SERR. 1978.** Enhancement of fetal lung maturity by intra-amniotic administration of thyroid hormone. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 130: 289-293
- MASON, R., D. VOELKER. 1998.** Regulatory mechanisms of surfactant secretion. *Biochim. Biophys. Acta.* 1408: 226-240
- MASSARO, D., L. CLERCH, C. MASSARO. 1982.** Surfactant secretion: evidence that cholinergic stimulation of secretion is indirect. *Am. J. Physiol.* 243: 39-45
- MEIER, A. 1977.** Prolactin, the liporegulatory hormone. *Adv. Expt. Med. Biol.* 80: 153-171
- MENEGHELLO, J., E. FANTA, E. PARIS, T. PUGA. 1997.** *Pediatría* 5ª ed. Editorial Panamericana S.A., Buenos Aires.
- MIHALKO, P. 1989.** Clearance of phosphatidylcholine and cholesterol from liposomes, liposomes loaded with metaproterenol, and rabbit surfactant from adult rabbit lung. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139: 752-758
- NEERGARD, K. V. 1929.** Original no disponible. En: ARENAS, G. 1985. Ontogenia del surfactante pulmonar. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 50: 72-78
- OYARZUN, M., J. CLEMENTS. 1978.** Control of lung surfactant by ventilation, adrenergic mediators and prostaglandines in the rabbit. *Am. Rev. Respir. Dis.* 117: 879-891
- OYARZUN, M., J. CLEMENTS, A. BARITUSSIO. 1980.** Ventilation enhances pulmonary alveolar clearance of radioactive dipalmitoyl phosphatidylcholine in liposomes. *Am. Rev. Respir. Dis.* 121: 709-721
- PAMELA, S., R. MICHELE, J. DZIECZKOWSKI, O. UTTER, M. DOMBROWSKI. 1999.** Amniotic fluid lamellar body count: cost-effective screening for fetal lung maturity. *Obstet. Gynecol.* 93: 387-391
- PATTLE., CLEMENTS. 1950.** Original no disponible. En: ARENAS, G. 1985. Ontogenia del surfactante pulmonar. *Rev. Chil. Obstet. Ginecol.* 50: 72-78
- PHELPS, D. S., H. TAEUSCH, B. BENSON, S. HAWGOOD. 1984.** An electrophoretic and immunochemical characterization of human surfactant-associated protein. *Biochim. Biophys. Acta.* 791: 226-238
- REEDING, R., C. PEREIRA. 1974.** Thyroid function in respiratory distress syndrome of the newborn. *Pediatrics.* 54: 423-428

- RICE, W., C. DORN, F. SINGLETON. 1990.** P2-purinoceptor regulation of surfactant phosphatidylcholine secretion. Relative roles of calcium and protein kinase C. *Biochem. J.* 266: 407-413
- RICE, W., G. ROSS, F. SINGLETON, S. DINGLE, J. WHITSETT. 1987.** Surfactant-associated protein inhibits phospholipid secretion from type II cells. *J. Appl. Physiol.* 63: 692-698
- RICHTER Y GOETZE. 1993.** Tiergeburtshilfe 4ª ed. Editorial Paul Parey, Berlin.
- RIZZARDINI, M. P. 1980.** Neonatología 1ª ed. Editorial Andres Bello S.A., Santiago.
- ROBERT, V., M. E. AVERY. 1971.** Accelerated appearance of pulmonary surfactant in the fetal rabbit. *J. Appl. Physiol.* 30: 358-361
- ROMERO, R., F. CHERVENAK, D. COUSTAN, R. BERKOWITZ, J. HOBBS. 1982.** Antenatal sonographic diagnosis of umbilical cord laceration. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 143: 719-720
- ROONEY, S. 1984.** Lung surfactant. *Environmen Health Perspectives.* 55: 205-226
- ROONEY, S., L. GOBRAN, T. WAI-LEE. 1977.** Stimulation of surfactant production by oxytocin-induced labor in the rabbit. *J. Clin. Invest.* 60: 754-759
- SANCHEZ, A., E. DONOSO. 1999.** Obstetricia. 3ª ed. Editorial Mediterráneo S.A., Santiago.
- SANO, K., D. VOELKER, R. MASON. 1987.** Effect of secretagogues on cytoplasmic free calcium in alveolar type II epithelial cells. *Am. J. Physiol.* 253: 679-686
- SCHATZ. 1882.** Original no disponible. En: DÍAZ MARTÍNEZ, G., M. VALDÉS, A. DALMAU. 1997. Antecedentes y actualidades en el diagnóstico prenatal. *Rev. Cubana. Obstet. Ginecol.* 23: 25-30
- SCHUMACHER, R., V. PARISI, H. STEADY, F. TSAO. 1985.** Bacteria causing false positive test for phosphatidylglycerol in amniotic fluid. *Am. J. Obstet. Gynecol* 151: 1067-1068
- SHERRI, A., V. CRAIG, A. STRAUSS, T. ASRAT, R. FREEMAN. 1998.** Meconium has no lecithin or sphingomyelin but affects the lecithin/sphingomuelin ratio. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 179: 1640-1642
- SISSON, S., J. D. GROSSMAN. 1993.** Anatomía de los animales domésticos. 5ª ed. Editorial Salvat S.A., México.



**SMITH, B., C. GIROUD, M. ROBERT, M. AVERY. 1975.** Insuline antagonism of cortisol action on lecithin synthesis by cultured fetal lung cells. *J. Pediatr.* 87: 953-955

**SMITH, Y., D. MULLON, M. HAMOSH, J. SCANLON, P. HAMOSH. 1980.** Serum prolactin and respiratory distress syndrome in the newborn. *Pediatr. Res.* 14: 93-95

**STEELE, M., W. BREG. 1966.** Chromosome analysis of human amniotic-fluid cells. En: DÍAZ MARTÍNEZ, G., M. VALDÉS, A. DALMAU. 1997. Antecedentes y actualidades en el diagnóstico prenatal. *Rev. Cubana. Obstet. Ginecol.* 23: 25-30

**STRAYER, D., R. PINDER, A. CHANDER. 1996.** Receptor-mediated regulation of pulmonary surfactant secretion. *Exp. Cell. Res.* 226: 90-97

**STUART, B. 1998.** Assessment of Fetal Lung Maturity. *Am. J. Clin. Pathol.* 110: 723-732

**VALENTIN., NADLER. 1968.** Original no disponible. En: DÍAZ MARTÍNEZ, G., M. VALDÉS, A. DALMAU. 1997. Antecedentes y actualidades en el diagnóstico prenatal. *Rev. Cubana. Obstet. Ginecol.* 23: 25-30

**VENTURA, P., L. TAPIA. 2002.** Manual de pediatría. Problemas respiratorios del recién nacido. Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile.

**WAGSTAFF, T., G. WHYLEY, G. FREEDMAN. 1974.** Factors influencing the measurement of the lecithin sphingomyelin ratio in amniotic fluid. *J. Obstet. Gynaecol Br. Common W.* 81: 264-277

**WALDO, N. 1987.** Tratado de Pediatría. 15ª ed. Editorial Interamericana·McGraw-Hill S.A., Madrid.

**WARBURTON, D., L. PARTON, S. BUCKLEY, L COSICO. 1989b.** L. Verapamil: a novel probe of surfactant secretion from rat type II pneumocytes. *J. Appl. Physiol.* 66: 1304-1308

**WARBURTON, D., S. BUCKLEY, L. COSICO. 1989a.** P1 and P2 purinergic receptor signal transduction in rat type II pneumocytes. *J. Appl. Physiol.* 66: 901-905

**WENDELL, G., ASHWOOD, E. 1994.** Enzymatic measurement of phosphatidylglycerol in amniotic fluid. *Clin. Chem.* 40: 518-525.

**WIJNBERGER, L. D., A. HUISJES, H. VOORBIJ, A. FRANX, H. BRUINSE, B. MOL. 2001.** The accuracy of lamellar body count and lecithin/sphingomyelin ratio in the prediction of neonatal respiratory distress syndrome: a meta-analysis. *Br. J. Obstet. Ginecol.* 108: 583-588

**WILLIAMSON, R. M. VARNER, C. WEINER. 1984.** Use of needle guide to improve sonographically directed amniocentesis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 149: 107-108

**WRIGHT, J., J. CLEMENTS. 1987.** Metabolism and turnover of lung surfactant. *Am. Rev. Respir. Dis.* 136: 426-444

**WU, B., Y. KIKKAWA, M. ORZALESI, E. MOTOYAMA, M. KAIBARA, C. ZIGAS, C. COOK. 1973.** the effect of thyroxine on the maturation of fetal rabbit lungs. *Biol. Neonate.* 22: 161-168

**ZAREMBA, W. 1996.** Perinatale Erkrankungen. En: Grunert, E. (Ed) Buiatrik. Ed M.y H. Schaper, Hannover.

**ZAREMBA, W., E. GRUNERT, J. AURICH. 1997.** Prophylaxis of respiratory distress syndrme in premature calves by administration of dexamethasone or a prostaglandin F<sub>2</sub>α analogue to their dams before parturition. *Am. J. Vet. Res.* 58: 404-407

## **9. AGRADECIMIENTOS.**

Quiero expresar mis sinceros agradecimientos al Dr. Pedro Saelzer por su gran apoyo y paciencia al ayudarme en cualquier momento que lo necesité.

A Alejandra García por estar siempre a mi lado, dándome aliento para seguir adelante.

Quiero agradecer a mis padres, que con su cariño y esfuerzo hicieron posible la culminación de mi carrera.