

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS



"DETERMINACION DE SUBSTANCIA SURFACTANTE EN EL
LIQUIDO AMNIOTICO COMO INDICE DE MADUREZ
PULMONAR "

AIDA YOLANDA GONZALEZ CORDON

Guatemala, Agosto de 1974.

PLAN DE TESIS

I. INTRODUCCION

II. SINDROME DE DIFICULTAD RESPIRATORIA

- a) Generalidades
- b) Definición
- c) Historia
- d) Relación con la Substancia Surfactante
- e) Métodos de Diagnóstico
- f) Fisiopatología
- g) Anatomía Patológica
- h) Laboratorio

III. MATERIALES Y METODOS

IV. RESULTADOS

V. COMENTARIO

VI. BIBLIOGRAFIA.

I. INTRODUCCION

En todos los servicios de Recién Nacidos, uno de los problemas más comunes e importantes es el Síndrome de Dificultad Respiratoria o Enfermedad de Membrana Hialina.

Se trata de una entidad específica, considerada como la mayor causa de mortalidad en Recién Nacidos, se estima que en Estados Unidos ocurren de 25,000 a - 40,000 muertes por esa causa cada año.

La enfermedad se observa en aproximadamente el 10% de todos los infantes -- prematuros, en algunos hijos de Madres Diabéticas, en hijos de Madres que han presentado hemorragia vaginal antes del parto, pero la mayor incidencia ocurre en prematuros con peso al nacer que oscila entre 1,000 y 1,500 gramos.

En muchos países, principalmente en Estados Unidos, se están efectuando estudios y sometiendo a pruebas de laboratorio, las muestras de líquido amniótico obtenidas por amniocentesis transabdominales y transvaginales, todo para lograr determinar la relación entre fosfolípidos y la presencia de surfactante y así comprobar la relación existente entre el material activo de superficie y la enfermedad de -- Membrana Hialina.

Entre esas pruebas encontré una que puede ser aplicada en nuestro medio, por ser bastante simple, barata, rápida y que ha sido diseñada para establecer si existe material activo de superficie en el líquido amniótico, ésta prueba depende de la -

capacidad de esta substancia, para generar espuma estable en presencia de etanol a 95%.

Tomando en cuenta la importancia de la Enfermedad de Membrana Hialina, me impuse llevar a cabo una investigación sobre el tema, para -- contar con datos propios, compararlos con estadísticas extranjeras y así sacar conclusiones propias.

SINDROME DE DIFICULTAD RESPIRATORIA

Hace algunos años se definía el Síndrome de Dificultad Respiratoria como idiópático, para indicar que la causa primaria era aún desconocida, actualmente la patología de esta enfermedad está suficientemente entendida para poder omitir el uso del término idiopático.

El diagnóstico in utero se puede predecir y si se encuentra una alta posibilidad de que el recién nacido desarrolle Síndrome de Dificultad Respiratoria, se pueden tomar las medidas terapéuticas apropiadas para tratar el caso sin demora cuando ocurra el nacimiento.

El síndrome que se describe, no es tanto una enfermedad como consecuencia de un desarrollo inmaduro intrauterino, o sea que el niño afectado aún no está preparado para la vida extrauterina, desde el punto de vista de función pulmonar.

La primera respiración, o sea el primer aliento crítico de vida, depende de cómo se encuentre el estado de los pulmones al nacer, ya que literalmente, marca el escenario para los eventos respiratorios que siguen.

La primera respiración requiere una presión intratorácica muy alta para expandir los pulmones con aire. El niño sano a término usualmente maneja esto sin mayor dificultad.

Al expirar después de la primera inspiración, los pulmones retienen una cantidad de aire residual, hasta el 40% del volumen pulmonar total. Esto hace que con las -

inspiraciones subsecuentes las presiones inspiratorias sean más bajas.

En un niño normal la retención de aire residual espiratoria se convierte en una función de estabilidad alveolar.

En los niños prematuros que desarrollan síndrome de Dificultad Respiratoria, una situación diferente prevalece. La primera presión inflatoria alta que se requiere para abrir los pulmones para la primera inspiración es también requerida para las inspiraciones siguientes.

Debido a que el desarrollo inmaduro de los pulmones deja a los alveolos incapaces de retener aire residual a la espiratoria, ellos se colapsan con cada respiración.

La misma presión inflatoria debe de iniciar la próxima respiración y otra vez los alveolos se colapsan a la espiratoria. O sea, que el niño es ta obligado a repetir su primera respiración una y otra vez.

Los problemas respiratorios de los niños que refieren Síndrome de Dificultad Respiratoria, señalan directamente a la deficiencia de un componente bioquímico específico, que delinea o forra los alveolos y es esencial para la estabilidad alveolar y la función pulmonar normal. El componente es el Surfactante Pulmonar.

Normalmente, su presencia en el delineamiento alveolar, retiene suficiente aire residual en los pulmones al espirar, para prevenir un colap-



so alveolar con cada respiración. Pero en ausencia del surfactante suficiente para mantener la estabilidad alveolar, es inevitable que aparezcan los problemas respiratorios que culminan en el Síndrome de Dificultad Respiratoria.

El origen actual del sistema de Surfactante Pulmonar, viene originalmente de una serie de observaciones que comenzaron en 1929, cuando un Fisiólogo -- Suizo, Von Neergard, comparó las curvas de presión-volumen obtenido cuando un pulmón aislado se infló y desinfló, tanto con aire como con solución salina.

Las diferencias impresionantes que se registraron le sugirieron que la tensión superficial del pulmón afectaba curvas de presión-volumen con la inflación de aire, y que este efecto era sobrellevado por la adición de solución salina.

Veinticinco años más tarde, Pattle y sus colaboradores en Gran Bretaña, notaron la estabilidad impresionante de las burbujas expulsadas de un corte de pulmón de mamífero con edema pulmonar. Comparadas con la burbuja del trasudado o plasma, las burbujas del edema pulmonar no estallaban, sino que retenían el aire durante más tiempo.

En base en estos hallazgos, Pattle propuso que las burbujas pulmonares estaban forradas o delineadas con un detergente compuesto de algún derivado de la superficie interna del pulmón, el cual mantenía la tensión superficial en un nivel requerido para retrasar el colapso de las burbujas. Las burbujas expulsadas de un pulmón normal han sido encontradas con el mismo grado de estabilidad que las expulsadas del pulmón con edema pulmonar.

Como es sabido, la tensión superficial es un fenómeno inherente en la interfase de dos sustancias dispuestas tales como el aire y el agua. En esencia, cada alveolo es una minúscula de burbuja de gas rodeada de una pequeña película de fluido.

En el pulmón de mamífero los millones de alveolos proveen de una amplia interfase de aire - fluido, sobre el área superficial requerida para el intercambio normal gaseoso.

En cualquier interfase de aire fluido, debido a las intramoleculares no balanceadas, el efecto de la tensión superficial es disminuir el área de superficie. Dentro del pulmón, cuando el forro alveolar está curvo, cóncavo al conducto, la reducción del área de superficie con la tensión superficial aumentada es suficiente para promover un colapso alveolar.

Si visualizamos a los alveolos como burbujas esféricas, se comportan de acuerdo con la Teoría de la Place, que hace la ecuación:

$$P = 2 \ T/R$$

Donde la tensión superficial (T) en la pared de la esfera es inversamente relativa al Radio (R) de la esfera, y proporcional a la presión (P) del gas contenido.

Por lo tanto, la tensión superficial en el alveolo aumentaría cuando el radio disminuye, por ejemplo, en la fase espiratoria de cada respiración.

Si no fuera por el factor protector del Surfactante pulmonar, el cual actúa en el pulmón normal manteniendo la estabilidad alveolar como medio de reducir la tensión superficial, mientras el radio alveolar disminuye, la alta tensión superficial a la espiración, produciría inevitablemente un colapso alveolar.

Clements y colaboradores en Estados Unidos, extrajeron una sustancia del revestimiento alveolar de mamífero, que difería bajo condiciones experimentales diferentes. El extracto formaba una película superficial que presentaba tensión superficial baja a la compresión y elevada a la expansión. Entonces se formuló una hipótesis; que este compuesto pulmonar, hasta entonces no identificado, sería capaz bajo condiciones naturales, de reducir la tensión superficial durante la desinflación de los pulmones para que la estabilidad alveolar pudiera mantenerse. Los estudios realizados más tarde, indicaron que estaban en lo cierto.

La naturaleza del Surfactante pulmonar se logró conocer más ampliamente, cuando en 1961, Klaus, Clements y colaboradores fraccionaron extractos de un pulmón normal de un bovino y lograron identificar un material superficialmente activo como un compuesto primario de fosfolípidos.

Al comparar este compuesto extractado con el Dipalmitato de Lecitina sintético, notaron suficiente similitud como para identificarlo como el compuesto probable de superficie activa.

Estudios posteriores han confirmado esto, pero el Dipalmitato de Lecitina no es el único componente de superficie activa en el pulmón de mamífero, es tan só-

lo el 50% del total de los fosfolípidos tenso activos, incluyendo los pulmones fetales de humanos y primates.

Esta actividad superficial parece referir su acción a su configuración química. Contiene un grupo Coli-Hidrofílico y dos cadenas laterales Hidrofóbicas de ácidos grasos saturados, la molécula está orientada a la superficie que los ácidos grasos saturados forman, una película altamente compresible que disminuye la presión.

Cuando los alveolos se abren con la inspiración, continúan expandiéndose cuando los pulmones se inflan, a la espiración, cuando la presión intratorácica se reduce al punto cero, el volumen residual previene el colapso alveolar.

Para el niño prematuro, incapaz de sintetizar un surfactante adecuado, una secuencia diferente ocurre. La posibilidad que la falta de material de revestimiento pulmonar normal pudiera ser la causa del desarrollo del Síndrome de Dificultad Respiratoria, fue explorado por primera vez por Avery y Mead quienes consideraron esta posibilidad como factor patogénico potencial en casos fatídicos. Estudiaron la relación entre la tensión superficial pulmonar y el mantenimiento de estabilidad alveolar, y dejaron abierta la posibilidad de que el material que disminuía la tensión y que se encontraba revistiendo los espacios aéreos en los animales de experimentación, fuera el que faltaba en los pulmones de los niños que fallecían de angustia respiratoria con formación

de Membranas Hialinas.

Se efectuaron estudios, usando el estabilizador de películas Wilhelmy modificado, para grabar el comportamiento de las películas de superficie. Con el estabilizador la tensión superficial se mide como función de cambios en la superficie del área.

El comportamiento de superficie de los extractos de pulmón de los niños prematuros fallecidos de Enfermedad de Membranas Hialina, fueron encontrados que diferían de aquellos de niños a término y adultos que fallecían por otras causas.

Las tensiones más bajas grabadas en niños a término y adultos estaban usualmente en el rango de 5 a 7 Din/cm. de área de superficie.

Basados en esos resultados, Avery y Mead sugirieron que la enfermedad está asociada con la falta o el aparecimiento retrasado de alguna substancia que en el sujeto normal se encuentra en la parte interna del pulmón, con capacidad de obtener una tensión superficial baja cuando el volumen pulmonar ha disminuido.

En los extractos de pulmón de niños prematuros muy pequeños, con peso al nacer menor de 1,200 grs. también se encontraron tensiones superficiales altas.

Los trabajos efectuados después, determinaron firmemente una marcada deficiencia en el surfactante pulmonar, principalmente del componente tenso activo mayor (Lecitina), en los pulmones de las víctimas de Síndrome de Dificultad Res-

piratoria. Al nacer todos los niños parecen tener un poco de Surfactante en los pulmones, sin embargo, después del nacimiento debe mantenerse una velocidad extraordinaria en la síntesis de esta substancia.

Si lo anterior no ocurre, la presión intratorácica alta que se requiere para expandir los pulmones se convierten en un círculo vicioso. El colapso de los alveolos al final de cada respiración, va a causar hipoxia y acidosis, esto reduce la corriente sanguínea pulmonar aumentando más la hipoxia y la acidosis.

Como efecto de la hipoxia, hay penetración de exudado del plasma en los espacios alveolares, y esto aumenta debido a la presión intratorácica alta. El resultado de este problema es que la acción del poco surfactante existente es inhibida.

Al conocer ya la relación del Síndrome de Dificultad Respiratoria con la prematurez, se tomó especial interés en la secuencia biosintética en el desarrollo de la actividad de superficie en etapas sucesivas de la gestación.

En los diferentes estudios que se efectuaron en mamíferos y en el hombre se llegó a la conclusión que la síntesis de Lecitina se efectúa a través de dos formas principales:

1. - Por incorporación de Colina.

Demostrado por la fórmula:

Citidina Difosfocolina + D-Alfa, Beta Diglicérido _____ Lecitina.

2. - Por medio de la reacción de Metilación.

Agregando en forma de secuencia tres grupos metilo al Fosfatidil Etanolamina.

Demostrado por la fórmula:

Fosfatidil Etanolamina + 3 CH₃ _____ Lecitina.

El niño prematuro humano al nacer y por poco tiempo después de nacer, sintetiza la lecitina alveolar tenso-activa principalmente a través de la reacción de metilación.

Las investigaciones sobre el Surfactante pulmonar humano han sido llevadas principalmente a través de estudios de necropsias, en niños que mueren -- con o sin síndrome de Dificultad Respiratoria, pero se sabía poco acerca de la biosíntesis de los fosfolípidos tenso activos en los niños vivos.

Otro trabajo efectuado en 1972, incluyó el estudio de las secreciones pulmonares recuperadas como aspirados traqueales o de orofaringe en recién nacidos humanos, determinando la presencia de la lecitina tenso activa y su relación con el Síndrome de Dificultad Respiratoria.

Este trabajo vino a reforzar la creencia que una investigación simple y segura efectuada en niños vivos podría dar valiosa información sobre la biosíntesis y el metabolismo de los fosfolípidos tenso activos y su papel en la función pulmonar.

En fetos viables hasta de 20 semanas de gestación, había escasa incorpo-

piratoria. Al nacer todos los niños parecen tener un poco de Surfactante en los pulmones, sin embargo, después del nacimiento debe mantenerse una velocidad extraordinaria en la síntesis de esta substancia.

Si lo anterior no ocurre, la presión intratorácica alta que se requiere para expandir los pulmones se convierten en un círculo vicioso. El colapso de los alveolos al final de cada respiración, va a causar hipoxia y acidosis, esto reduce la corriente sanguínea pulmonar aumentando más la hipoxia y la acidosis.

Como efecto de la hipoxia, hay penetración de exudado del plasma en los espacios alveolares, y esto aumenta debido a la presión intratorácica alta. El resultado de este problema es que la acción del poco surfactante existente es inhibida.

Al conocer ya la relación del Síndrome de Dificultad Respiratoria con la prematurez, se tomó especial interés en la secuencia biosintética en el desarrollo de la actividad de superficie en etapas sucesivas de la gestación.

En los diferentes estudios que se efectuaron en mamíferos y en el hombre se llegó a la conclusión que la síntesis de Lecitina se efectúa a través de dos formas principales:

1. - Por incorporación de Colina.

Demostrado por la fórmula:

Citidina Difosfocolina + D-Alfa, Beta Diglicérido Lecitina.



2. - Por medio de la reacción de Metilación.

Agregando en forma de secuencia tres grupos metilo al Fosfatidil Etanolamina.

Demostrado por la fórmula:

Fosfatidil Etanolamina + 3 CH₃ Lecitina.

El niño prematuro humano al nacer y por poco tiempo después de nacer, sintetiza la lecitina alveolar tenso-activa principalmente a través de la reacción de metilación.

Las investigaciones sobre el Surfactante pulmonar humano han sido llevadas principalmente a través de estudios de necropsias, en niños que mueren con o sin síndrome de Dificultad Respiratoria, pero se sabía poco acerca de la biosíntesis de los fosfolípidos tenso activos en los niños vivos.

Otro trabajo efectuado en 1972, incluyó el estudio de las secreciones pulmonares recuperadas como aspirados traqueales o de orofaringe en recién nacidos humanos, determinando la presencia de la lecitina tenso activa y su relación con el Síndrome de Dificultad Respiratoria.

Este trabajo vino a reforzar la creencia que una investigación simple y segura efectuada en niños vivos podría dar valiosa información sobre la biosíntesis y el metabolismo de los fosfolípidos tenso activos y su papel en la función pulmonar.

En fetos viables hasta de 20 semanas de gestación, había escasa incorpo-

ración de los precursores de la lecitina por medio de la reacción de Metilación; la vía de la Transferasa Fosfocolina para la síntesis de la lecitina, fue vagamente identificada.

Bajo condiciones normales alrededor de la 22 y 24 semana de gestación se encontró síntesis activa por vía de la reacción de Metilación, pero muy poca por vía de la transferasa Fosfocolina.

De estas investigaciones se hizo aparente que normalmente en el transcurso del desarrollo prenatal humano, la lecitina tenso activa se produce -- primariamente por vía de la reacción de metilación hasta alrededor de la 35 semana de embarazo, esto es hasta que la vía de la transferasa Fosfocolina se hace activa. A partir de la semana 36 en adelante, esto se convierte en el medio mayor de síntesis de lecitina, a pesar que ambas vías continúan trabajando.

Los análisis de la lecitina tenso activa de acuerdo con la composición de ácidos grasos, tanto de niños prematuros nacidos entre las 33 y 35 semanas, como de niños a término y sanos, muestran la secuencia de desarrollo con la madurez pulmonar avanzada, mientras que en los prematuros el componente principal beta carbono de la lecitina tenso activa era el ácido mirístico, lo cual indicaba la síntesis de lecitina por vía de la reacción de Metilación en un niño a término, los ácidos grasos beta carbono contenían gran

/por vía cantidad de palmítico, indicador de la síntesis de lecitina de la transferasa Fosfocolina, junto con ácido mirístico, reflejando la actividad de ambas vías de sintetización.

En los prematuros, la proporción del ácido beta carbono palmítico, tardaba más en aumentar después de la respiración y aún pasadas las 24 horas, usualmente el ácido Beta mirístico aún predominaba.

Como podemos darnos cuenta existen grandes diferencias en el patrón de maduración pulmonar entre humanos y los animales de laboratorio que fueron estudiados (Conejos y ovejas).

La vía de síntesis de lecitina, por medio de la metilación, la cual no contribuye virtualmente a la maduración pulmonar en los animales de laboratorio hasta un poco tiempo después del nacimiento, parece ser de importancia primordial en el humano varias semanas antes de llegar a término la gestación.

Manteniendo la estabilidad pulmonar anterior a la activación de la vía de la transferasa fosfocolina parece ser un factor crucial que permite que el niño humano nazca prematuro y pueda sobrevivir

Faltando ésta capacidad para la síntesis de lecitina, los animales podrían hacer lo mismo, si nacen demasiado pronto, ellos mueren demasiado pronto por insuficiencia respiratoria.

Al hombre, tan bendecido en tantas formas, le es concedido el regalo de vivir mucho antes que termine el período gestacional normal.

Estudios en primates han demostrado que ellos también gozan de una ventaja similar a la del hombre.

Observaciones posteriores en niños prematuros hacen aparente que a me-
nos que exista una vía de metilación que sea capaz de establecer por lo me-
nos estabilidad alveolar, el Síndrome de Dificultad Respiratoria, resultaría -
inevitablemente. El precursor de lecitina que había sido el indicador de una
reacción de metilación en prematuros sanos, era deficiente o estaba ausente
en los patrones cromatográficos de los aspirados obtenidos de los prematuros -
con Síndrome de Dificultad Respiratoria.

Estudios posteriores de los casos de Síndrome de Dificultad Respiratoria,
demostraron que al nacer, la mayoría de los niños que desarrollaban la en-
fermedad, estaban acidóticos y/o hipotérmicos, llegando a la sala de recién
nacidos con una temperatura rectal menor de 35 grados centígrados.

También fue significativo que ni la acidosis ni la hipotermia, ni ambos
fueron asociados con el Síndrome de Dificultad Respiratoria clínica en niños
a término.

Estudios de aspirados traqueales obtenidos cuando la hipotermia persistía
y cuando los niños eran calentados, surgió que la síntesis de lecitina por --
medio de la vía de metilación, podría ser impedida en los niños a término -
víctimas de hipotermia y acidosis, pero los niños a término no dependen de
la vía de metilación para la síntesis del surfactante ya que al nacimiento --

ellos ya están sintetizando la lecitina tenso activa por los dos medios.

La vía de metilación es menos resistente a presiones tales como hipoter-
mia y acidosis, pero no parece importar mucho, ya que la síntesis del surfac-
tante por la vía más estable de la incorporación de la colina proporciona el
surfactante necesario para mantener la estabilidad pulmonar.

El niño prematuro que depende de la vía de metilación, tiene desventa-
ja, produce una cantidad menor de la requerida de surfactante, sus medios -
de producción son fácilmente interrumpidos y les fallan completamente cuan-
do más los necesitan. La vía de metilación es vulnerable a la hipotermia, a
la hipoxia y a la acidosis.

Una de las metas más importantes del estudio del Síndrome de Dificul-
tad Respiratoria es utilizar los hallazgos bioquímicos sobre la maduración pul-
monar para indicar la posibilidad de que ocurra la enfermedad, antes del na-
cimiento.

El conocimiento que el pulmón fetal segrega un ultrafiltrado sanguíneo
que lleva a la distensión alveolar, este conocimiento sugirió a algunos inves-
tigadores que las secreciones pulmonares representan el mayor componente -
del fluido amniótico. Scarpelli y colaboradores confirmaron esto al demos-
trar la similitud en fosfolípidos y proteínas en la composición del líquido am-
niótico y los fluidos traqueales.

En estudios clínicos hechos por Gluck y colaboradores, se compararon -

la lecitina tenso activa obtenida antes del nacimiento por medio de amniocentesis y la obtenida inmediatamente después del nacimiento por medio de aspirados traqueales, se observaron patrones casi idénticos.

Al analizar el líquido amniótico en una etapa de gestación temprana, la lecitina es sintetizada principalmente por medio de la vía de metilación después de la semana 36, se hizo más importante la vía de incorporación — de colina.

Al progresar estos trabajo, Gluck y colaboradores se dieron cuenta que la maduración pulmonar estudiada in útero, se podría utilizar también para identificar a las futuras víctimas de Síndrome de Dificultad Respiratoria, después de nacidos.

Esto era simple de realizarse con sólo medir la relación que guardan en el líquido amniótico la lecitina con otro fosfolípido que es la esfingomielina. Hasta alrededor de la semana 30 de gestación, la cantidad de esfingomielina en el líquido amniótico es más alta o por lo menos no menor que la concentración de lecitina.

De ahí, la lecitina aumenta hasta la semana 35 cuando aumenta con rapidez hasta llegar a ser el doble de la esfingomielina y continúa aumentando mientras que la esfingomielina disminuye.

El incremento de la lecitina indica la activación de la síntesis de lecitina por vía de la incorporación de colina.

El cambio en el radio de los dos fosfolípidos indica que la madurez pulmonar a avanzado a una etapa que permite que la vida del útero pueda proceder — normalmente, si ocurre ^{/fuera} el nacimiento habrá muy poca o ninguna probabilidad — de Síndrome de Dificultad Respiratoria.

La medida del radio, o proporción entre lecitina y esfingomielina, los fosfolípidos extraídos del líquido amniótico, son evaluados por medio de la cromatografía.

Más frecuentemente se han hecho nuevos experimentos y recientemente, — Clements y colaboradores descubrieron el test rápido para determinar la presencia de surfactante en el líquido amniótico. Es esta última prueba la que se tomó de modelo para efectuar el trabajo de investigación práctica que describo posteriormente.

La mayoría de los Recién Nacidos afectados tienen dificultad para respirar — normalmente. Anteriormente se creía que existía un intervalo de tiempo libre después del nacimiento antes de establecerse los síntomas. Sin embargo, si los Recién Nacidos se observan de cerca y se examinan cuidadosamente, los síntomas se notan inmediatamente después del nacimiento. Gruñidos o quejidos (se observan cuando el Recién Nacido no está llorando), retracción esternal y sub-costal, aleteo nasal, respiraciones rápidas (+ de 70X'), y temperaturas corporales bajas se ven tempranamente.

la lecitina tenso activa obtenida antes del nacimiento por medio de amniocentesis y la obtenida inmediatamente después del nacimiento por medio de aspirados traqueales, se observaron patrones casi idénticos.

Al analizar el líquido amniótico en una etapa de gestación temprana, la lecitina es sintetizada principalmente por medio de la vía de metilación después de la semana 36, se hizo más importante la vía de incorporación -- de colina.

Al progresar estos trabajos, Gluck y colaboradores se dieron cuenta que la maduración pulmonar estudiada in útero, se podría utilizar también para identificar a las futuras víctimas de Síndrome de Dificultad Respiratoria, después de nacidos.

Esto era simple de realizarse con sólo medir la relación que guardan en el líquido amniótico la lecitina con otro fosfolípido que es la esfingomielina. Hasta alrededor de la semana 30 de gestación, la cantidad de esfingomielina en el líquido amniótico es más alta o por lo menos no menor que la concentración de lecitina.

De ahí, la lecitina aumenta hasta la semana 35 cuando aumenta con rapidez hasta llegar a ser el doble de la esfingomielina y continúa aumentando mientras que la esfingomielina disminuye.

El incremento de la lecitina indica la activación de la síntesis de lecitina por vía de la incorporación de colina.

El cambio en el radio de los dos fosfolípidos indica que la madurez pulmonar a avanzado a una etapa que permite que la vida del feto ^{/fuera} pueda proceder -- normalmente, si ocurre el nacimiento habrá muy poca o ninguna probabilidad -- de Síndrome de Dificultad Respiratoria.

La medida del radio, o proporción entre lecitina y esfingomielina, los fosfolípidos extraídos del líquido amniótico, son evaluados por medio de la cromatografía.

Más frecuentemente se han hecho nuevos experimentos y recientemente, -- Clements y colaboradores descubrieron el test rápido para determinar la presencia de surfactante en el líquido amniótico. Es esta última prueba la que se tomó de modelo para efectuar el trabajo de investigación práctica que describo posteriormente.

La mayoría de los Recién Nacidos afectados tienen dificultad para respirar -- normalmente. Anteriormente se creía que existía un intervalo de tiempo libre después del nacimiento antes de establecerse los síntomas. Sin embargo, si los Recién Nacidos se observan de cerca y se examinan cuidadosamente, los síntomas se notan inmediatamente después del nacimiento. Gruñidos o quejidos (se observan cuando el Recién Nacido no está llorando), retracción esternal y sub-costal, aleteo nasal, respiraciones rápidas (+ de 70X'), y temperaturas corporales bajas se -- ven tempranamente.

Quejidos, los cuales parecen ser los signos más importantes y más útiles en la clínica, puede ser la única indicación temprana de la enfermedad, mientras que una disminución de los quejidos puede ser el primer signo de mejoría.

Algunos Recién Nacidos están cianóticos al permanecer en un medio ambiente ventilado. Los Recién Nacidos afectados severamente, que están cianóticos aún con Oxígeno, pueden tener una frecuencia respiratoria normal.

La auscultación del tórax, revela entrada pobre de aire, disminución de los ruidos respiratorios y ocasionalmente estertores finos. La presión sanguínea arterial está a veces disminuida, las extremidades están ligeramente edematosas y los ruidos intestinales están frecuentemente ausentes en las primeras horas de la enfermedad. La excreta urinaria está baja los primeros dos o tres días de vida.

Conforme la enfermedad progresa, la frecuencia respiratoria aumenta, la retracción costal se acentúa más y se establece una respiración de sube y baja, (a la inspiración la pared anterior del tórax se retrae y el abdomen se protruye y a espiración, el esternón se sube), el edema periférico aumenta y el tono muscular disminuye; conforme aumenta la cianosis, la temperatura corporal tiende a bajar y períodos cortos de apnea se notan; excepto -

por episodios de bradicardia, con períodos cortos de cianosis severa y quejidos, la frecuencia cardíaca frecuentemente se estabiliza. Muchos síntomas están relacionados con asfixia, la cual, cuando es severa, deprime el centro respiratorio, produciendo episodios apnéicos, esto cambia la distribución sanguínea dentro del cuerpo (resultando la piel de un color gris pálido), disminuye la producción de calor. Cerca del 50 a 70% de todos los Recién Nacidos que se tratan sobreviven.

LABORATORIO :

Una radiografía de tórax debe ser tomada inmediatamente para descartar otras condiciones que producen síntomas similares a los del Síndrome de Dificultad Respiratoria, tales como una hernia diafragmática, pneumotorax o fallo cardíaco. Los rayos X aunque no siempre son diagnósticos, muestran un patrón difuso retículo granular y broncograma aéreos.

El patrón reticular puede que no sea igual bilateralmente. En la primera hora de vida los rayos X pueden ser normales, pero conforme progresa la enfermedad, usualmente muestra un volumen de aire más pequeño y aumenta la opacidad. Un hematocrito venoso o arterial debería obtenerse para descartar pérdida sanguínea, que es una complicación que puede semejar el síndrome de dificultad respiratoria.

Las presiones sistémicas y pulmonares están levemente reducidas, los es

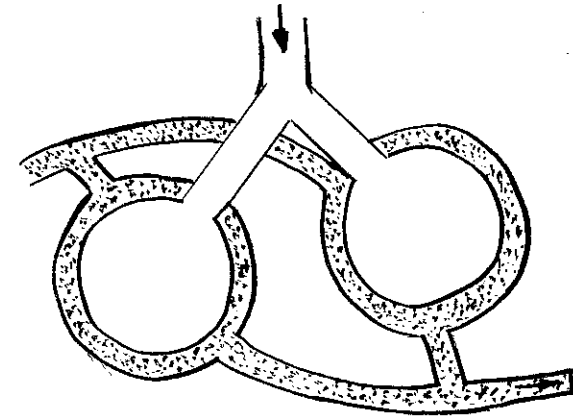
tudios de función pulmonar, muestran que el intercambio de oxígeno y de CO_2 están obstaculizados y las medidas de los gases sanguíneos usualmente muestran hipoxemia y una acidosis respiratoria moderadamente severa con presiones de CO_2 que varía de 50 a 90 mms. de Hg. Algunos recién nacidos también muestran evidencia de acidosis metabólica severa, secundaria a la hipoxia (Ph de 7.1 a 7.3).

Recién nacidos afectados severamente, tienen un Shunt grande de derecha a izquierda. El torrente sanguíneo pulmonar efectivo, es severamente reducido, tanto como el 40% del pulmón puede ser ventilado, pero no perfundido por sangre, resultando en una gran diferencia de tensiones entre la tensión alveolar y arterial de CO_2 (Ver Figura No. 1.).

La complacencia pulmonar se reduce a la quinta parte de lo normal, mientras que la capacidad residual funcional está ligeramente disminuida. La elasticidad pulmonar anormal y los quejidos aumentan grandemente el trabajo respiratorio.

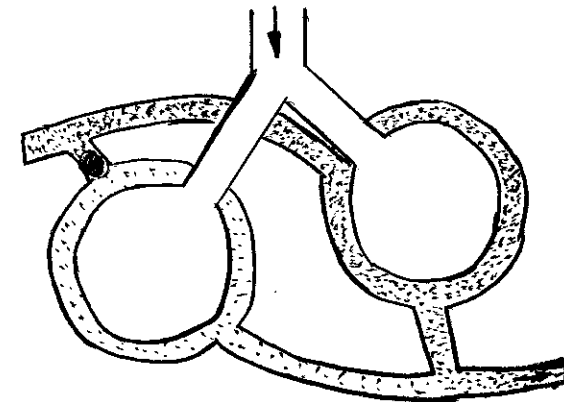
En las autopsias, los pulmones semejan al hígado, sin aumentar en su contenido acuoso. Al examen microscópico, el hallazgo interesante es que sólo los ductos alveolares que están grandemente dilatados y los bronquios terminales contienen aire, el resto del pulmón está sin aire. Membranas homogéneamente coloradas de rosado que parecen hialinas cubren

MEZCLA ALVEOLAR $\text{Pco}_2 = 40 \text{ mm Hg.}$



Arterial $\text{Pco}_2 = 40 \text{ mm Hg.}$

MEZCLA ALVEOLAR $\text{Pco}_2 = 22.5 \text{ mm Hg.}$



Arterial $\text{Pco}_2 = 40 \text{ mm Hg.}$

FIGURA No. 1.

los bronquiolos terminales, los ductos alveolares y los alveolos y los vasos pulmonares están a veces engrosados, los linfáticos están aumentados de tamaño.

Si el Recién Nacido sobrevive por tiempo menor de 4 a 5 horas, las membranas no se ven todavía. Infiltración leucocítica: usualmente se observa en recién nacidos que mueren después de las 48 horas de vida. Hemorragia pulmonar frecuentemente se nota.

Estudios microscópicos histoquímicos y electrónicos muestran que las membranas están compuestas de productos de la sangre del recién nacido. Las células epiteliales alveolares están dañadas y la membrana basal está discontinuada. La presión de aire y la distribución del volumen y las curvas de desinflación del pulmón difieren distintamente de los pulmones de aquellos recién nacidos que mueren por causas no pulmonares.

Aún en las presiones de inflación más alta los pulmones hialinos contienen menos aire y significativamente, conforme la presión baja, la curva de desinflación sigue la curva de inflación cercanamente. (Ver Gráfica No. 1.).

Las curvas de volumen presión anormales están asociadas con alteraciones del forro alveolar, los extractos pulmonares preparados de recién nacidos que mueren con síndrome de Dificultad Respiratoria fallan para reducir tensiones superficiales más abajo de 20 dinas, mientras que extractos preparados de pulmones de recién nacidos que mueren por causas no pulmonares, reducen la tensión superficial de 1 a 2 dinas X cms.

Estudios bioquímicos del pulmón muestran una disminución cuantitativa en la fracción fosfolípida de superficie altamente activa.

Como se describe el surfactante alveolar se necesita para la estabilidad alveolar, y su alteración o deficiencia en esta enfermedad, probablemente - explica en parte la disminución de la elasticidad pulmonar y las atelectasias notadas durante la vida, tanto como el volumen de aire presión anormal y -- las curvas encontradas en las autopsias.

Un estudio de la vascularidad del pulmón muestra resistencia vascular - pulmonar que está marcadamente aumentada. La capa muscular de las paredes arteriolas pulmonares, está engrosada y su lúmina es pequeña, las arteriolas que aparecen como ellas, es en pulmones de niños que nunca se expandieron o en recién nacidos, aunque este halla vivido por muchas horas, pero afecto de dificultad respiratoria.

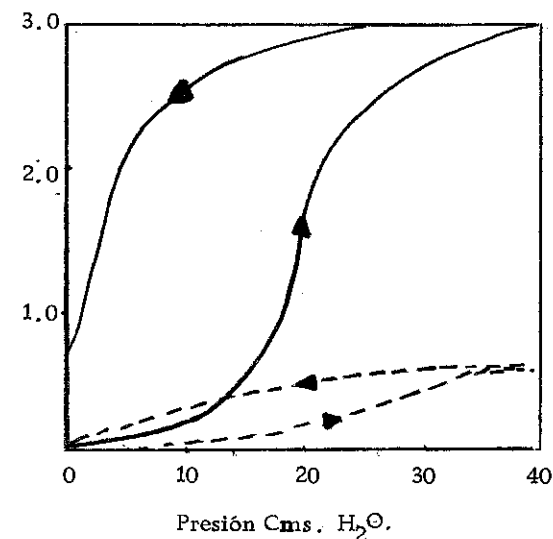
Perfusión de la red vascular del pulmón, utilizando sulfato de bario como medio de contraste, muestra una cama arterial severamente reducida, con bloqueo cerca de las arteriolas pulmonares. (Ver Figuras Nos. 2 y 3).

Por lo tanto, ambas, la superficie alveolar y la vascularidad del pulmón están afectadas.

Hemorragias intraventriculares y sub-ependimales son también a veces observadas en las autopsias de niños que mueren por enfermedades de Mem--branas Hialinas.



GRAFICA No. 1. -



SINDROME DE DIFICULTAD
RESPIRATORIA.



FIGURA No. 2.-



FIGURA No. 3. -

MATERIALES Y METODOS

Aunque la prueba es relativamente simple, la técnica es muy importante, las medidas exactas y hay algunas condiciones bajo las cuales la prueba no debe hacerse.

El líquido amniótico es obtenido por punción trans-abdominal del útero, o transvaginal por punción directa de las membranas.

Cuando la punción es trans-abdominal, debe hacerse un diagnóstico adecuado de la presentación y posición del producto de gestación, se utiliza una aguja espinal número 22 y una jeringa de 10ml., la punción debe hacerse en la región donde se localiza el ~~del~~ ^{dorso} del niño, a nivel de la nuca, después de efectuada una asepsia cuidadosa.

Si el líquido se obtiene por amniocentesis transvaginal, para evitar complicaciones, deben cumplirse las siguientes condiciones:

1. - Membranas enteras
- 2- Paciente con trabajo de parto activo
3. - Que no exista ningún tipo de distocia
4. - Dilatación cervical como mínimo de 5 a 6 cms.
5. - Altitud de + 1 en adelante.

Con la paciente en posición ginecológica, se hacen visibles las membranas con ayuda del espéculo, se hace asepsia y utilizando una aguja espinal —

No. 22, se punciona en la parte inferior de las membranas, cuando no hay con tracción uterina.

El líquido así obtenido debe ser agitado suavemente para obtener una sus- pensión uniforme de las partículas y la prueba debe ser efectuada inmediata--- mente.

A cinco tubos de ensayo de 10 X 100 mls. , numerados del 1 al 5, se les coloca respectivamente volúmenes de líquido amniótico de: 1.00, 0.75, 0.50, 0.25 y 0.20 mls. , medidos con pipeta, se les agrega 0.25, 0.50, 0.75 y 0.80 mls. , de solución salina al 0.9% a los tubos 2,3, 4 y 5; luego se les agrega 1 - ml. de etanol al 95% a cada tubo, se tapan los tubos con tapones de hule muy limpios y se agitan vigorosamente durante 15 segundos, medidos estrictamente con reloj y se colocan los tubos en una gradilla; quince minutos después, debe examinarse la superficie líquida aérea y se registra como positivo, si presenta un anillo completo de burbujas pequeñas estables, en el menísco.

Si en los primeros tres o más tubos de ensayo, la lectura es positiva, el test se considera positivo y eso implica madurez pulmonar. (Ver Figura No. 4.)

Si en los dos primeros tubos es positivo, la lectura del test será interme--- dia o dudosa para madurez pulmonar. (Ver Figura No. 5.).

Si solo el primer tubo, o ninguno es positivo, el test será negativo, y se interpreta como inmadurez pulmonar. (Ver Figura No. 6.).

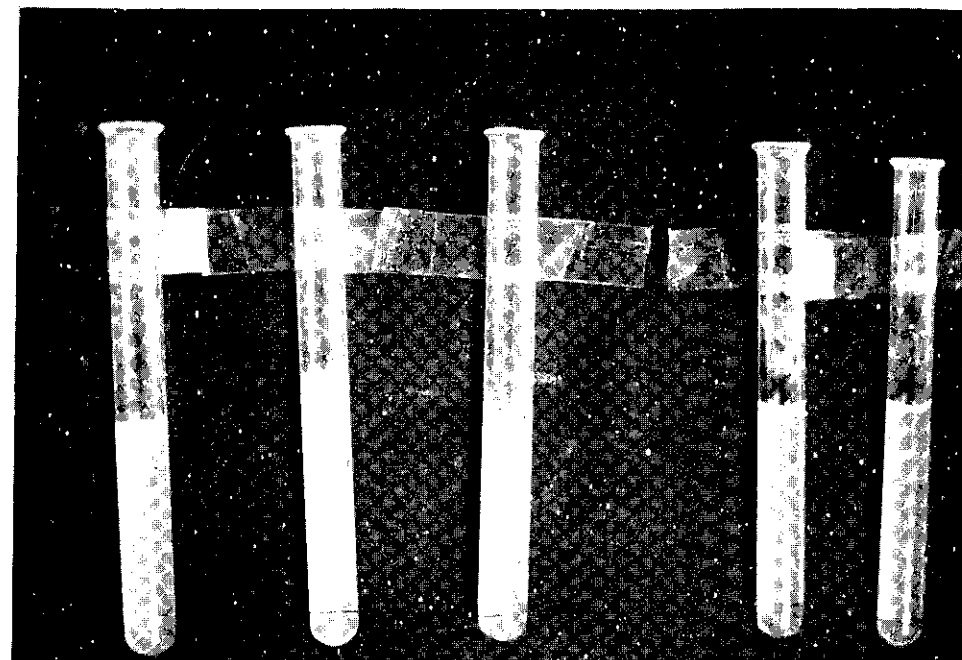


FIGURA No. 4. -

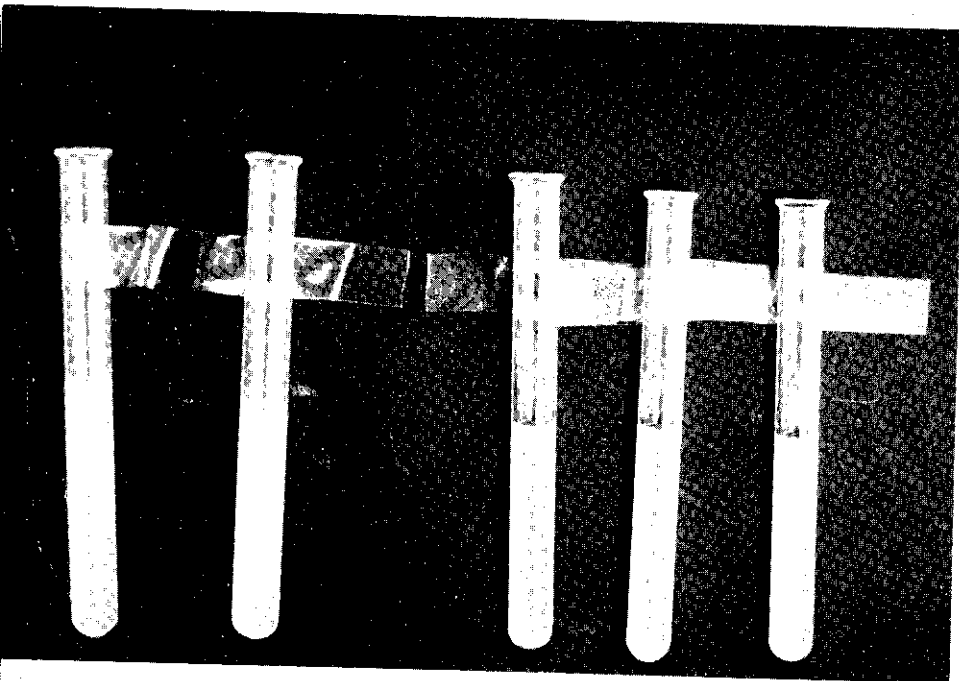


FIGURA No. 5.

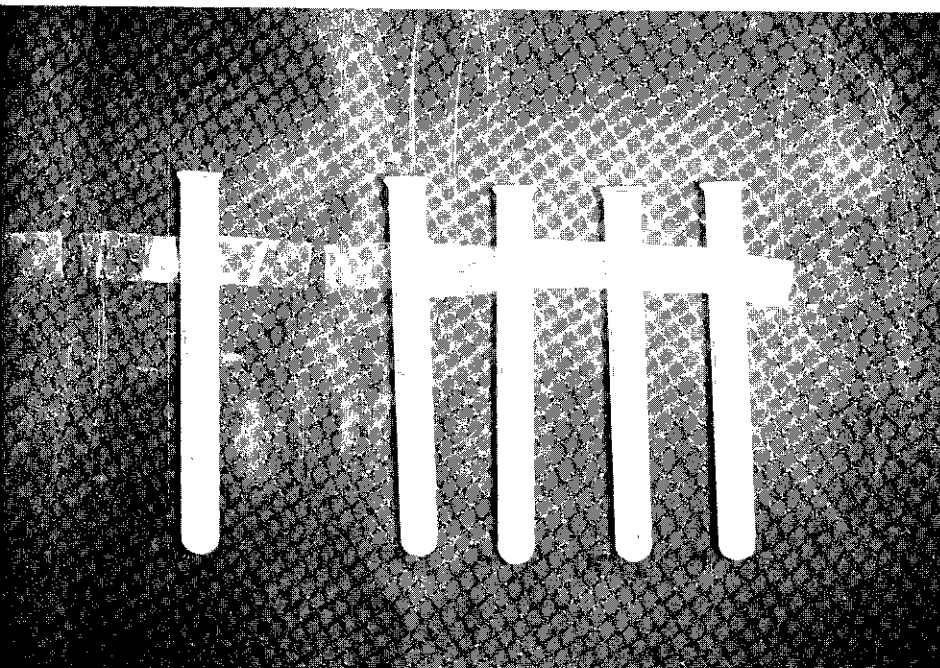


FIGURA No. 6.

Existen ciertos factores que ameritan consideración especial;

PRIMERO: La concentración final del alcohol en el sistema, es muy importante y los volúmenes deben ser medidos estrictamente, el alcohol al 95% es preparado del etanol absoluto, agregando 10 mls. de agua destilada a 190 mls. de etanol absoluto, esta solución ya preparada se guarda completamente cerrada, desatapándola únicamente cuando se va a usar y sacando el contenido con pipeta.

SEGUNDO: La solución salina al 0.9% debe ser preparada de cloruro de sodio en grado de reactivo y de agua destilada.

TERCERO: Los tubos de vidrio deben estar limpios, sin remanentes de jabón, suero o líquidos biológicos, que puedan producir espuma, el diámetro interno puede variar de 8 a 14 X 100 mls.

CUARTO: El movimiento de los tubos, después de producida la espuma, puede romper las burbujas o distribuir las sobre los lados del tubo; o sea, que es esencial no mover los tubos después de producida la espuma.

QUINTO: Cuando se pierde la primera lectura, no es conveniente agitar de nuevo los tubos, es mejor comenzar de nuevo con nuevas muestras.

SEXTO: Se observó que en algunas ocasiones se formaba precipitado al mezclar el etanol, por lo que es necesario mucho cuidado en la lectura y diferenciar estrictamente las pequeñas burbujas del precipitado, para no inferir datos falsos.

Y por último, cuando en el líquido amniótico se comprueba la presencia de meconio o sangre, la prueba no debe realizarse, pues dará resultado positivo.

RESULTADOS

Con el fin de estimar la madurez pulmonar fetal, se determinó substancia surfactante por el método de Clements, en 200 muestras de líquido amniótico obtenidas por amniocentesis transvaginal, en pacientes con trabajo de parto activo y por vía trans-abdominal en pacientes que serían sometidas a cesáreas electivas, en algunas pacientes diabéticas, en pacientes con problemas de Rh, etc. (Ver cuadros Nos. 1 y 2).

La gran mayoría de pacientes tenían una edad gestacional comprendida entre las 37 y 40 semanas de gestación, aunque en la serie estudiada también hubo pacientes en las que se esperaba un parto prematuro.

Después del nacimiento, el niño fue evaluado, se estimó por examen físico su edad gestacional y se observó hasta el día de su egreso, anotando si presentaba / o no signos de dificultad respiratoria.

Cuando un niño iniciaba dificultad respiratoria, se efectuaba un examen clínico completo, anotando todos los datos positivos, se tomaba radiografía de tórax, para ver si existían los cambios patológicos que se encuentran en la Enfermedad de Membranas Hialinas, y en caso de fallecimiento se efectuaba autopsia clínica para confirmar el diagnóstico.

Resultados de la prueba (Ver cuadro No. 3.)

178 pruebas con lecturas claramente positivas para la presencia de subs--

tancia surfactante, indicando madurez pulmonar, no presentaron problemas respiratorios, 172 casos con edad gestacional de 38 a 40 semanas, 5 casos oscilaron de 33 a 37 semanas y un caso de 32 semanas de gestación.

14 lecturas intermedias con test dudoso para madurez pulmonar, 5 recién nacidos estuvieron libres de problemas respiratorios, 8 presentaron dificultad respiratoria en las primeras 48 horas de vida, radiografía de tórax en estos pacientes era normal y su evolución fue satisfactoria. Un niño presentó enfermedad de Membranas Hialinas comprobada clínica y radiológicamente y confirmado el diagnóstico por autopsia clínica.

8 lecturas fueron consideradas claramente negativas para la presencia de sustancias surfactante, indicando inmadurez pulmonar, 1 de ellos estuvo libre de problemas respiratorios, su edad gestacional era de 39 semanas, probablemente se cometió algún error al hacer la prueba, pero no fue posible detectarlo. Los otros siete casos presentaron enfermedad de Membranas Hialinas clínicamente, se comprobó por radiografía de tórax y en dos de los casos se confirmó el diagnóstico por autopsia clínica.

CUADRO No. 1.

NUMERO DE CASOS:

AMNIOCENTESIS :

TRANS-CERVICALES	176
TRANS-ABDOMINALES	24
T O T A L :	200

CUADRO No. 2.

INDICACIONES PARA AMNIOCENTESIS

CESAREAS ELECTIVAS	15
DIABETES MELLITUS	2
EMBARAZOS DE DURACION	
INCIERTA	3
PROBLEMAS DE Rh	2
PLACENTA PREVIA	1
FIEBRE TIFOIDEA	1



CORRELACION ENTRE LA PRESENCIA DE SURFACTANTE EN EL
LIQUIDO AMNIOTICO CON EL ESTADO RESPIRATORIO DEL RECEN NACIDO

RESULTADOS A PRUEBA	NUMERO DE CASOS	EDAD GESTACIONAL (SEMANAS)			CON DIFICULTAD RESPIRATORIA		SIN DIFICULTAD RESPIRATORIA
		28-32	33-37	38 EN ADELANTE	DRT	MH	
POSITIVOS Prueba 3/5	178	1	5	172	0	0	178
INTERMEDIO Prueba 2/5	14	7	7	0	8	1	5
NEGATIVOS Prueba 1/5	8	3	4	1	0	7	1

CUADRO No. 3. -

COMENTARIO.

En la enfermedad de Membranas Hialinas, creo que la substancia Surface tiene un papel muy importante en su etiología.

La función pulmonar determina la sobrevivencia del niño y este puede nacer antes que sus pulmones estén suficientemente desarrollados, cuando esto ocurre y no hay substancia activa de superficie, constituida por fosfolípidos, se desarrolla rápidamente el problema respiratorio.

Conocemos que desde el pulmón fetal es llevado material activo de superficie en suspensión hasta la cavidad amniótica, esto ha sido demostrado por investigaciones de laboratorio, analizando las relaciones y los índices de Lecitina y Esfingomielina en el líquido amniótico. Se ha propuesto técnicas de análisis que necesitan adecuado equipo de laboratorio y técnicas especializadas que en nuestro medio hospitalario no podemos realizar.

La prueba que se somete a estudio en la presente investigación, es barata rápida y de fácil ejecución y por los resultados obtenidos, comparados con estudios iguales realizados en otros países, creo que tiene un alto valor para la predicción del Síndrome de Dificultad Respiratoria, cuando se efectúa con la técnica adecuada y los peligros para la Madre y el Niño, son pocos.

En la práctica Obstétrica es muchas veces deseable la evaluación de la madurez del niño, para decidir una Cesárea electiva, para decidir cuando in-

terrumpir el embarazo de una paciente diabética, en embarazos complicados con sensibilización a Rh, en gestaciones de duración desconocida, y en otras situaciones específicas.

Creo que no es sólo en estos casos que debe efectuarse esta prueba sino que podría incluirse dentro de los exámenes que por rutina se les practica a las futuras Madres, antes o durante el trabajo de parto, según sea el caso, para tener un margen de seguridad, o sea dicho en otras palabras, para estar preparados cuando según los resultados obtenidos, se espere el nacimiento de un niño con falta de madurez pulmonar y que por consiguiente va a presentar dificultad respiratoria y tratar de evitarle la muerte por causa de la enfermedad de Membranas Hialinas.

BIBLIOGRAFIA

1. - Avery, M.E. and Mead, J. Surface properties in relation to atelectasis and hialine membrane disease. Amer. J. Dis. Child., 97 (8):517-523, April, 1959. -
2. - Boehm, F., Srisupundit, S. and Ishu, T. Lecithin spingomyelin ratio - and a rapid test for surfactant in amniotic fluid. Obstet Ginecol., 41 (6): 829-832, June, 1973.
3. - Buerke, R., et al. Pulmonary surfactant. Obstet Ginecol., 41 (6): 833-836, June 1973.
4. - Clements, J.A., et al. Assessment of the risk of the respiratory distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. N. Engl. J. Med., 286 (20): 1077-1081, May 18, 1972.
5. - Gluck, L., et al. Biochemincal development of surfacé activitu in mamalian lung. IV. Pulmonary lecithin synthesis in the human fetus --- and newborn and etiology of the respiratory distress syndrome. Pediat Res., 6 (4): 81-99, Feb. 1972.
6. - _____ The diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. Amer. J. Obstet Gynecol., 109 (4): 440-445, April 29, 1971.
7. - _____ Rapid queantitative measurement of lung tissue phospholipids. J. Lipid Res., 7 (5): 570-573, Oct., 1966.
8. - _____ Biochemical development of surface activity y mammalian -- lung. III Structural changes in lung lecithin during development of the rabbit fetus and newborn. Pediat. Res., 4 (3): 352-368, May 1, --- 1970.
9. - _____ Biochemical development of surface activity in mammalian - lung. I. The surface active phopholipids, the separation and distribution of surface active lecithin in the lung of the developing rabbit fetus and newborn. Pediat. Res., 11 (4): 237-242 Sept., 1967.

Bibliografia...

- 10- Klaus, M., et al. Respiratory function and pulmonary disease in the newborn. The Pulmonary System., 25(7): 1422-1435, Feb., --- 1973.
- 11- Nelson, G., et al. Relationship between amniotic fluid lecithin concentration and respiratory distress syndrome. Am. J. Obstet Gynecol., 112 (6): 827-832, March, 1972.

Vo. Bo.



Srta. Aura Estela Singer C.
Bibliotecaria.

BR. AIDA YOLANDA GONZALEZ CORDON

R. ROBERTO SOSA DE LEON

Asesor.

DR. RODOLFO GONZALEZ LAYLE

Revisor.

R. JULIO DE LEON MENDEZ

Director de Fase III.

DR. FRANCISCO A. SAENZ BRAN

Secretario.

Vo. Bo.

DR. CARLOS ARMANDO SOTO GOMEZ

Decano.