

1985-I

REG. No. 077264752

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



**COMPARACION DEL EFECTO ESTIMULANTE
EN LA PRODUCCION DEL SURFACTANTE PULMONAR
DE VARIOS FARMACOS EN FETOS PREMATUROS
DE LAS RATAS.**

MARCELA CARDONA CAMPOS

Comparación del efecto estimulante en la producción del surfac
tante pulmonar de varios fármacos en fetos prematuros de las
ratas.

Marcela Cardona Campos.

Director de Tesis:

Q.F.B. Rosa María Puebla Pérez.

Esta tesis se realizó en la sección de inmunopatología de la
División de Patología de la Unidad de Investigación Biomédica
de Occidente, bajo la dirección del Dr. HECTOR GOMEZ ESTRADA.

A mis padres.

Agradezco profundamente al Dr. Héctor
Gómez Estrada, Q.F.B. Ana María Puebla
Pérez y Aurora D'Amico Martínez, por sus
valiosos conocimientos que me brindaron.

Con mucho agradecimiento al Dr. Amado González Mendoza, Jefe de la División de Patología Experimental, de la UIBO, por la oportunidad que me brindó para elaborar mi trabajo de tesis.

I N D I C E

INTRODUCCION.....	1
ANTECEDENTES.....	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	4
HIPOTESIS.....	5
OBJETIVO.....	5
MATERIAL Y METODOS.....	5
EVALUACION DE RESULTADOS.....	8
RESULTADOS.....	9
DISCUSION.....	12
CONCLUSION.....	14
BIBLIOGRAFIA.....	15

INTRODUCCION

Un 9.5% de los niños que nacen en el Hospital de Ginec Obstetricia del Centro Médico de Occidente del I.M.S.S., son inmaduros. La inmadurez puede deberse ya sea al nacimiento antes del término de la gestación, o falta del crecimiento y desarrollo del feto en útero.*

Un 94% de los neonatos inmaduros presentan el síndrome de insuficiencia respiratoria neonatal (SIRN) y el 75% de ellos fallecen a consecuencia del SIRN.*

El SIRN es debido a la falta de desarrollo anatómico y funcional de los pulmones. La principal causa radica en la deficiencia de producción del surfactante pulmonar (SP)^{1,2,}

El SP es una mezcla de fosfolípidos producidos por los neumocitos tipo II de los alveolos pulmonares. Estas células y su capacidad de producción del SP no se encuentra desarrollado en los fetos inmaduros^{1,3,4,}

La función del SP es disminuir la tensión superficial y la adhesividad de las paredes de los alveolos pulmonares, lo que permite que estos puedan llenarse de aire durante la inspiración y que no lleguen a quedar colapsados después de la espiración. Ello permite la ventilación pulmonar necesaria para la hematosis^{4,5,}

El número de neumocitos tipo II y su capacidad para secretar el SP aumentan al final de la gestación de acuerdo al grado de crecimiento,

* Pérez Medina R. Servicio de embarazo de alto riesgo. Hospital de Ginec Obstetricia del Centro Médico de Occidente, I.M.S.S.

y grado de madurez fisiológica fetal³. La producción del SP puede estimularse en los fetos inmaduros con hormonas derivadas de la cortisona y algunos medicamentos como la aminofilina, terbutalina y el ambroxol⁵⁻⁸.

Con el objeto de reducir la mortalidad que causa el SIRM se han ensayado diversos medicamentos en humanos y en ovejas; pero estos estudios presentan serios inconvenientes: En humanos, la inmadurez se asocia a diversas enfermedades materno-fetal y los métodos de diagnóstico y tratamiento son variables difíciles de controlar⁹⁻¹⁷. Las ovejas son especies mayores con las que resulta difícil trabajar grandes números de animales para cada experimento, lo que dificulta el ensayo y la comparación de nuevos fármacos^{5,7}.

Para este trabajo se consideró que las ratas embarazadas y sus fetos debían ser un modelo experimental en él podrían probarse y compararse diversos medicamentos. El objeto de esta comunicación es presentar los resultados obtenidos con la terbutalina, ambroxol, hidrocortisona, betametasona y aminofilina, cuya efectividad para estimular la producción del SP en los fetos inmaduros de ratas fue ascendente en este orden.

ANTECEDENTES

La función respiratoria es vital para los vertebrados. Para efectuarse, se requiere la integridad y elasticidad de la caja torácica, la maduración histológica del tejido pulmonar, la permeabilidad de las vías aéreas y la expansibilidad de los alveolos pulmonares¹⁸.

La expansibilidad de los alveolos pulmonares consiste en que ellos pueden dilatarse al recibir el aire inspirado y permanecer sin colapsarse durante la espiración. Esta propiedad depende de la presencia en ellos del SP⁵.

El SP está formado por una mezcla de fosfolípidos: fosfatidil colina disaturada (principalmente dipalmitil), fosfatidil glicerol, fosfatidil inositol, fosfatidiletanolamina y otros lípidos y proteínas. Estos fosfolípidos recubren la superficie interna de los alveolos y les permite conservar su estructura histológica esponjosa, sin que se colapsen ni adhieran sus paredes entre sí y puedan seguir ventilándose^{5,19}.

El SP es producido por las células de revestimiento de los alveolos pulmonares, denominados neunocitos tipo II³.

En los fetos inmaduros humanos y de otras especies la cantidad de los neunocitos tipo II y su capacidad para producir el SP se encuentran disminuidas.

Ello da lugar a que los recién nacidos inmaduros desarrollen el síndrome de insuficiencia respiratoria neonatal (SIRN) y muchos de ellos mueran asfixiados¹³.

Para evitar este problema, se ha comprobado que la hidrocortisona y la aminofilina, son capaces de estimular la producción del SP en los fetos inmaduros de algunos animales como las ovejas, los conejos y de otras especies^{5,6,20}.

La aminofilina ha resultado útil para el tratamiento de la apnea prolongada que se observa en niños de pretérmino^{6,7}.

La hidrocortisona tiene un efecto inmunodepresor asociado que resulta perjudicial para los neonatos^{5,7}.

Además de la hidrocortisona y la aminofilina existen otros fármacos como el embroxol, la terbutalina y la betametasona, que tienen acción broncodilatadora, se pensó en hacer un estudio comparativo de estos fármacos para ver cual resulta mas efectivo de estimular la producción del SP⁷.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

No existe un modelo experimental para estudiar la eficacia relativa de los medicamentos que estimulen la producción del surfactante pulmonar.

HIPOTESIS

Es posible desarrollar un modelo experimental en ratas gestantes para estimular la producción del surfactante pulmonar con diferentes medicamentos y evaluar la eficacia relativa de ellos.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo fue investigar cual de los fármacos: aminofilina, ambroxol, terbutalina, hidrocortisona y betametasona, tienen el mayor efecto estimulante en la producción del surfactante pulmonar en los fetos prematuros de las ratas.

MATERIAL Y METODOS

RATAS GESTANTES. Se utilizaron ratas hembras y machos de la cepa (Sprague-Douley), de 250 a 300 g de peso, alojadas en jaulas de plástico con cama de aserrín esterilizado y alimentadas con alimento comercial para roedores (Anderson-Clayton) y agua purificada para consumo voluntario, en habitaciones con temperatura controlada a 22°C y ciclos de iluminación alternos de 12 horas.

Se formaron siete grupos de 30 ratas gestantes en cada grupo. Para obtener las ratas gestantes se formaron grupos de cinco hembras, las que se aparearon un día con los machos.

OBTENCION DE LOS FETOS. Se interrumpió la gestación por uterotomía los días 16, 17, 18, 19 y 20. Se registró el número de fetos de cada gestación y su pesos individual.

CONTENIDO DEL SP. De cada feto se obtuvieron los pulmones por tarocotomía y se registró su peso. La determinación del contenido del SP se hizo en alícuotas de 600 mg de tejido pulmonar que se homogenizó en 3 ml de NaCl, se centrifugó a 1000 G por 10 minutos.

En el sobrenadante claro se determinó el contenido del SP por el método de Clements¹². Este consistió en utilizar cuatro tubos de ensayo a los que se les agregaron los siguientes reactivos:

Reactivos (ml)	Tubo N°			
	1	2	3	4
Sobrenadante pulmonar	1:00	0.75	0.50	0.25
NaCl 0.15 M	-	0.25	0.50	0.75
Etanol absoluto	1.00	1.00	1.00	1.00

Enseguida, los tubos se agitaron vigorosamente por 15 segundos, se dejaron reposar 15 minutos y el resultado se leyó en número de cruces de acuerdo a la cantidad de espuma presente: (Fig VI).

Cuando las pruebas fueron positivas con el sobrenadante sin diluir, se repitieron con diluciones 1:2 y 1:4 del sobrenadante pulmonar para valorar el contenido relativo del SP en cada muestra. Los resultados se expresaron de acuerdo a las siguientes equivalencias:

<u>Dilución</u>	<u>Resultado</u>	<u>Equivalencia</u>
1:1	Negativo	0
1:1	Positivo débil	1
1:1	Positivo	2
1:2	Positivo débil	3
1:2	Positivo	4
1:4	Positivo débil	5
1:4	Positivo	6

El contenido del SP se correlacionó con los días de gestación, peso de los productos y su peso pulmonar,

MEDICAMENTOS. Las dosis y vías de administración fueron fijadas de acuerdo a las utilizadas en los humanos, según el siguiente cuadro:

Medicamento	mg/Kg de peso	Vía
Aminofilina	6.92	subcutánea
Hidrocortisona	4.15	intramuscular
Betametasona	82.00	intramuscular
Ambroxol	10.00	subcutanea
Terbutalina	8.00	subcutanea

Estas dosis se aplicaron a ratas gestantes durante tres días antes de interrumpir la gestación.

EVALUACION DE RESULTADOS

La correlación del contenido del SP con los días de gestación, peso de los fetos y peso pulmonar se evaluó mediante el cálculo de coeficiente de correlación (r) de Sperman²¹.

Los resultados del contenido del SP de los grupos de ratas tratadas y no tratadas, se analizaron mediante la prueba U de Mann-Whitney²¹.

También se hizo análisis de varianza de una clasificación por rangos de Kruskal Wallis entre los grupos de fetos prematuros de las ratas tratadas con el grupo de ratas no tratadas; así como también de los fetos a término²¹.

RESULTADOS

En este trabajo se observó que el método de Clements es útil para evaluar el contenido del SP en los pulmones fetales.

El promedio de fetos por rata fue de 12 ± 3 .

Los resultados se resumen en las Tablas y figuras I, II y III.

Se observó que hubo correlación entre los días de gestación y el contenido del surfactante pulmonar que dio una coeficiente de correlación $r = 0,93$ (Tabla I).

Se observó que hubo una mejor correlación entre el peso de los fetos y el contenido del surfactante pulmonar, con un coeficiente de correlación $r = 0.95$ (Tabla II).

La correlación entre el peso pulmonar de los fetos y su contenido de surfactante pulmonar fue buena, con un coeficiente de correlación $r = 0.87$ (Tabla III).

Las correlaciones entre la edad gestacional, peso fetal y peso pulmonar fueron altamente significativas ($p < 0,001$).

Los datos mostraron que la producción del surfactante pulmonar se inicia al 17avo día de gestación, o sea cuatro días antes del término del embarazo de las ratas que dura 21 días, o bien cuando los fetos han alcanzado 3.0 g de peso in útero.

Para este trabajo se consideraron fetos prematuros aquellos que naturalmente no habían logrado producir el SP.

Los resultados del contenido del SP en los fetos prematuros de las ratas tratadas con los medicamentos, así como la comparación del efecto estimulante de ellos, se muestran en la Tabla IV y Figura IV.

Puede verse que los fetos prematuros de las ratas tratadas con aminofilina presentaron un contenido de SP de 1.5 ± 0.73 . Los fetos de las ratas tratadas con hidrocortisona y betemetasona tuvieron un contenido de SP de 1.0 ± 0.50 . Al comparar estos tres grupos con el grupo testigo las diferencias fueron altamente significativas ($p < 0.001$). El incremento en el contenido del SP fue mayor con la aminofilina.

Los fetos de ratas tratadas con ambroxol presentaron un contenido de SP de 0.87 ± 0.71 y también hubo diferencia altamente significativa al compararlo con el grupo testigo ($p < 0.005$).

En cambio los fetos de las ratas tratadas con terbutalina presentaron un título de SP de 0.23 ± 0.43 que al compararlo con el grupo testigo no hubo diferencia significativa.

La aminofilina fue la que resultó con mayor efecto estimulante en la producción del SP en los fetos prematuros de las ratas.

En la Tabla y Figura V se muestran los resultados del contenido del SP en los fetos a término de ratas tratadas y no tratadas, así como

La comparación del efecto estimulante, En estos grupos el contenido del SP fue para el grupo testigo de $3,12 \pm 1,07$, para el grupo inyectado con aminofilina de $4,75 \pm 1,71$; para el grupo betametasona de $4,25 \pm 0,43$; para el grupo de hidrocortisona de $2,43 \pm 0,49$; para el grupo ambroxol de $2,43 \pm 0,49$ y para el grupo terbutalina de $3,43 \pm 0,90$. Puede verse que se incrementó el contenido del SP con los fármacos utilizados en los fetos a término. Sin embargo no hubo diferencias estadísticas significativas.

Mediante el análisis de varianza se observaron diferencias altamente significativas ($p < 0,001$) en los fetos prematuros de ratas con tratamiento y sin tratamiento. En cambio en los fetos a término no hubo diferencias significativas.

TABLA I

CORRELACION ENTRE LOS DIAS DE GESTACION DE LOS FETOS Y SU CONTENIDO DEL SURFACTANTE PULMONAR.

Casos	Días de gestación $\bar{X} \pm s$	Contenido de surfactante pulmonar $\bar{X} \pm s$	r^*
24	17.46 \pm 1.32	1.33 \pm 1.78	0.93

tr = 11.8488

p < 0.001

* Coeficiente de correlación de Spearman.

FIG. I
CORRELACION ENTRE LOS DIAS DE GESTACION DE LOS FETOS Y SU
CONTENIDO DEL SURFACTANTE PULMONAR

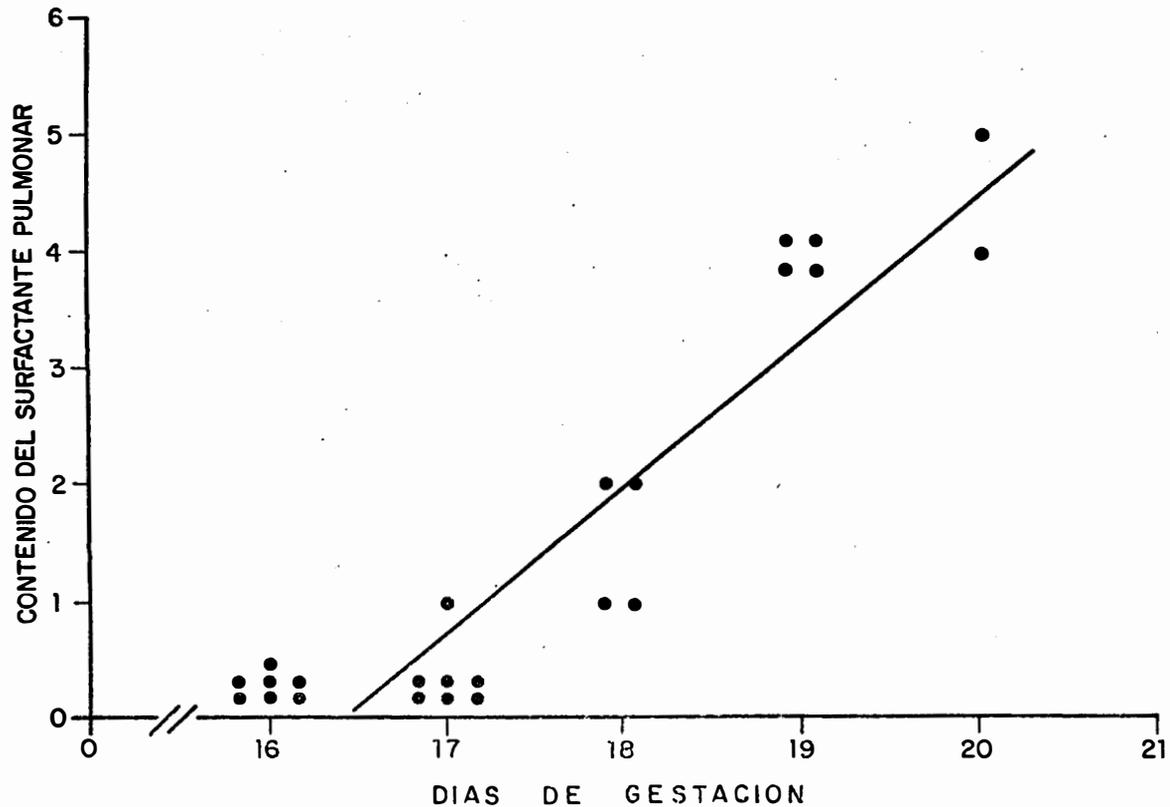


TABLA 22

CORRELACION ENTRE LOS PESOS FETALES Y SU CONTENIDO DE SURFACTANTE PULMONAR.

Casos	Peso del Producto (g) $\bar{X} \pm s$	Contenido de sur- factante pulmonar $\bar{X} \pm s$	r*
24	2.91 \pm 1.71	1.33 \pm 1.78	0.95
tr = 14.4266			p < 0.001

* Coeficiente de correlación de Spearman.

FIG. II
CORRELACION ENTRE EL PESO FETAL Y CONTENIDO DEL
SURFACTANTE PULMONAR

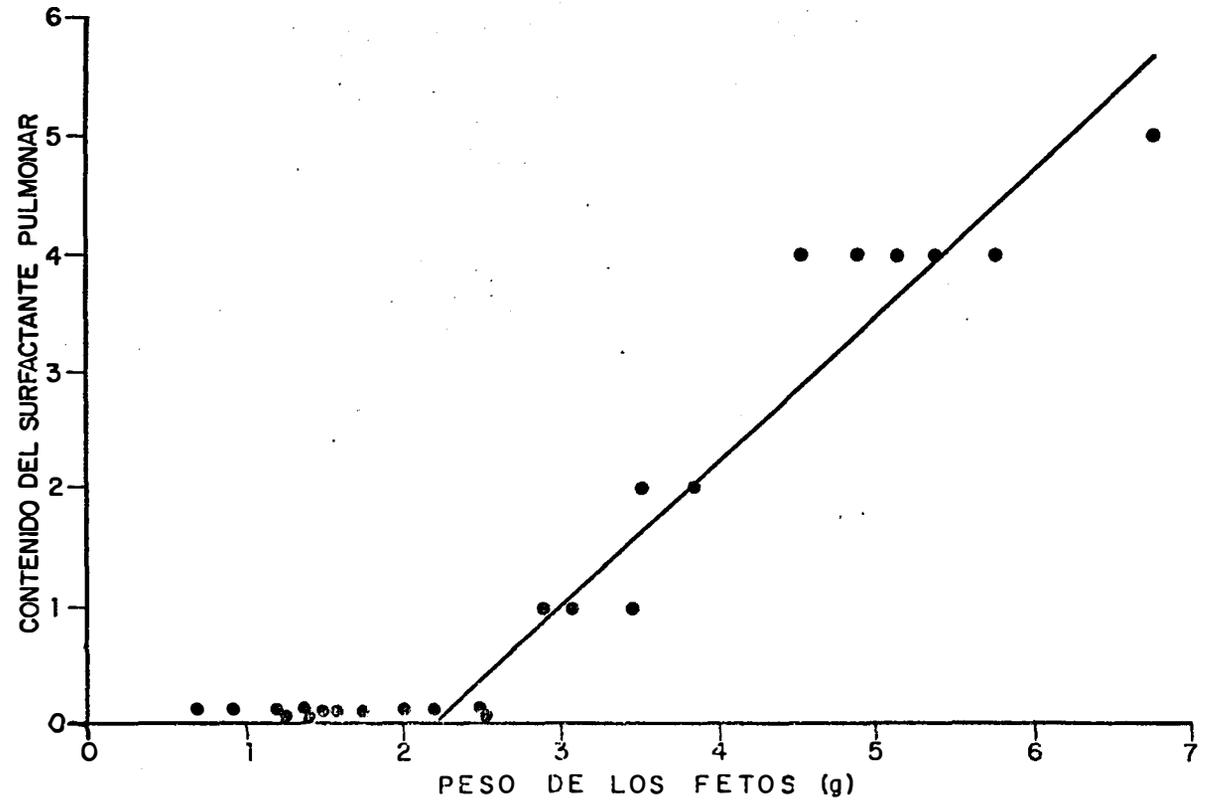


TABLA III

CORRELACION ENTRE EL PESO PULMONAR DE LOS FETOS Y EL CONTENIDO DE SURFACTANTE PULMONAR.

Casos	Peso pulmonar (mg) $\bar{X} \pm s$	Contenido de surfactante pulmonar $\bar{X} \pm s$	r^*
24	80 \pm 50	1.33 \pm 1.78	0.87

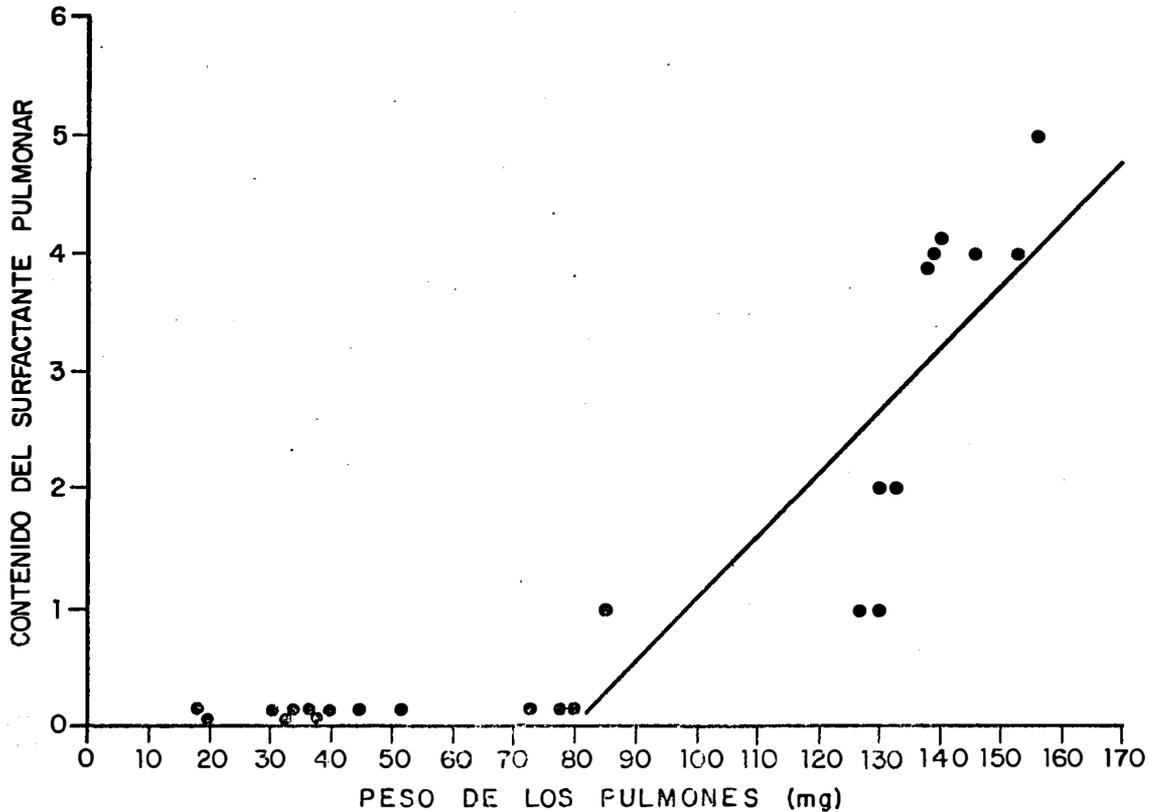
tr = 8.2335

$p < 0.001$

* Coeficiente de correlación de Spearman.

FIG. III

CORRELACION ENTRE EL PESO PULMONAR FETAL Y EL
CONTENIDO DE SURFACTANTE PULMONAR



T A B L A IV

CONTENIDO DEL SURFACTANTE PULMONAR (SP) EN FETOS PREMATUROS
DE RATAS TRATADAS CON DIVERSOS MEDICAMENTOS Y TESTIGOS.

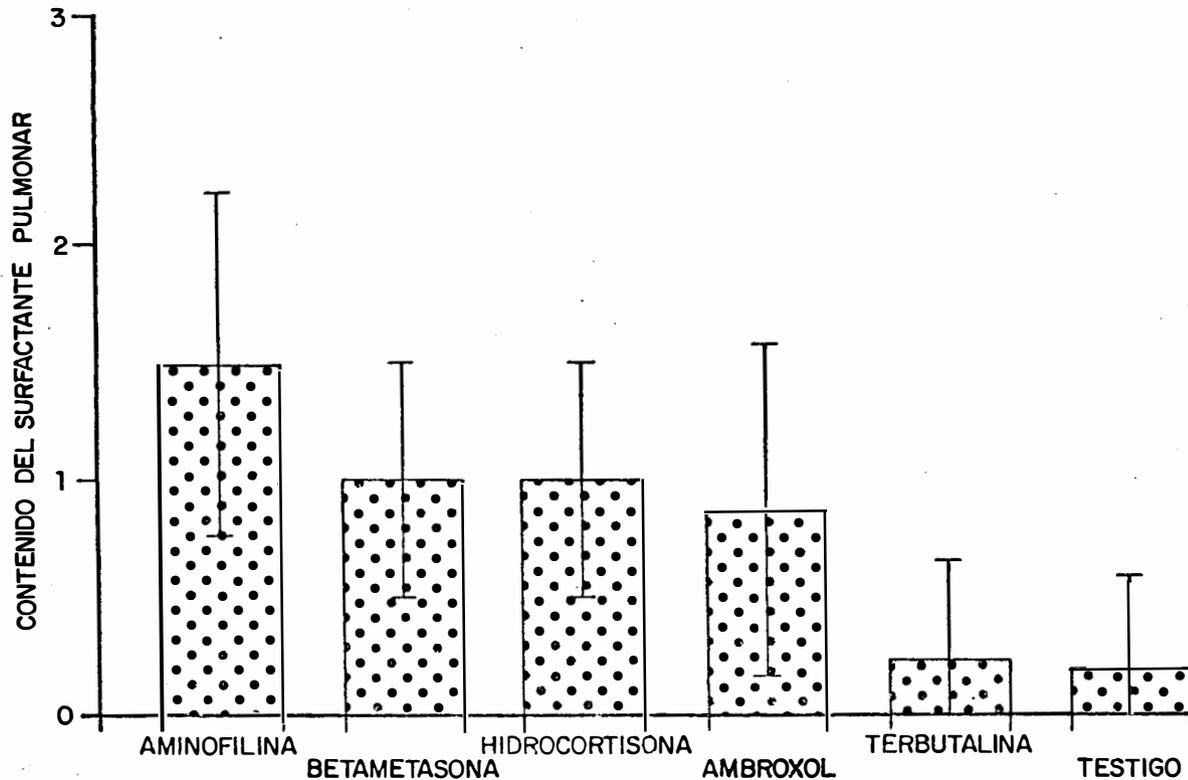
Grupo	Tratamiento	Ratas	Pruebas	$\bar{X} \pm s$ SP*	Comparación con el grupo 1**
1	Testigo	21	16	0.19 \pm 0.40	-
2	Aminofilina	23	16	1.50 \pm 0.73	0.001
3	Betametasona	18	16	1.00 \pm 0.50	0.001
4	Hidrocortisona	26	17	1.00 \pm 0.50	0.001
5	Ambroxol	23	16	0.87 \pm 0.71	0.005
6	Terbutalina	24	17	0.23 \pm 0.43	NS

* Método de Clements¹²

** Mediante la prueba U de Mann-Whitney.

FIG. IV

CONTENIDO DEL SURFACTANTE PULMONAR EN FETOS PREMATUROS DE RATAS TRATADAS CON DIVERSOS MEDICAMENTOS



T A B L A V

CONTENIDO DEL SURFACTANTE PULMONAR (SP) EN LOS FETOS A TERMINO
DE LAS RATAS TRATADAS CON DIVERSOS MEDICAMENTOS Y TESTIGOS.

Grupo	Tratamiento	Ratas	Pruebas	SP* $\bar{X} \pm s$	Comparación con el grupo 1**
1	Testigo	8	17	3.12 \pm 1.07	-
2	Aminofilina	4	8	4.75 \pm 1.71	NS
3	Betametasona	4	8	4.25 \pm 0.43	NS
4	Hidrocortisona	3	7	2.43 \pm 0.49	NS
5	Ambroxol	4	7	2.43 \pm 0.49	NS
6	Terbutalina	3	7	3.43 \pm 0.90	NS

* Método de Clements¹²

** Mediante la prueba U de Mann-Whitney.

FIG. V
CONTENIDO DEL SURFACTANTE PULMONAR EN FETOS A TERMINO
DE RATAS TRATADAS CON DIVERSOS MEDICAMENTOS Y TESTIGO

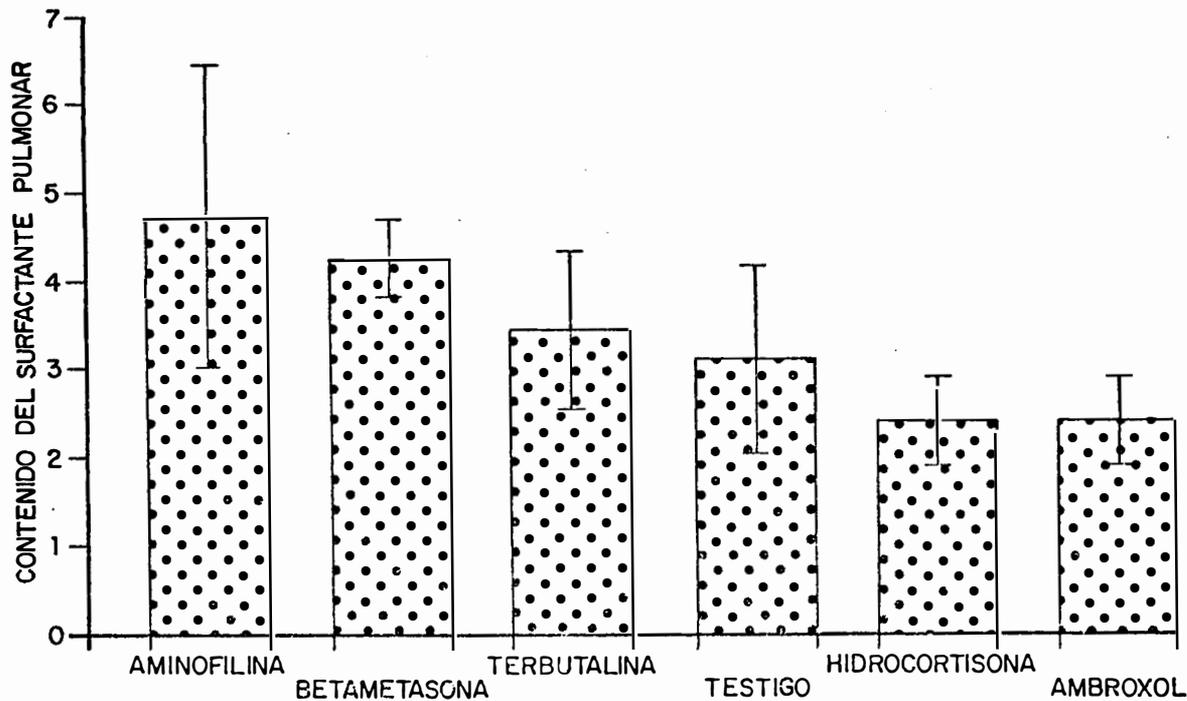


FIG. VI

TUBOS

RESULTADOS

1

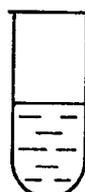
2

3

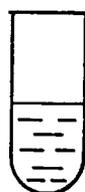
4



POSITIVO



POSITIVO
DEBIL



NEGATIVO

DISCUSION

Los resultados de éste estudio, confirmaron que las ratas gestantes son un buen modelo experimental, para estudiar la eficacia relativa de los medicamentos que estimulan la producción del surfactante pulmonar.

En este modelo experimental se observó que la producción del SP se inicia al dieciséisavo día de gestación y se manifiesta más claramente el día dieciochoavo de la gestación de la rata, que dura 21 días.

Considerando que el período gestacional de la rata es de veintiún días, se hizo un estudio de correlación del SP y encontramos una correlación altamente significativa (Tabla I) con la cual se pudo deducir que la producción del SP evoluciona con la edad gestacional de la rata. Este dato concuerda con los informes de Gluck, Scarpelli, Brunley y otros investigadores⁴.

También se encontró una buena correlación entre el peso del producto y peso pulmonar con el contenido del SP (Tablas II y III).

El propósito de investigar cuando inicia la producción del SP fue para saber si con el tratamiento con los fármacos probados podría anticiparse o incrementarse la producción del SP en los fetos prematuros y saber cuál medicamento tendría el mayor efecto estimulante.

Los resultados mostraron que la aminofilina, la hidrocortisona, la be

tametasona y el ambroxol tuvieron efecto estimulante y altamente significativo comparado con el grupo testigo (Tabla IV). De ellos, la aminofilina, tuvo el mayor efecto estimulante en la producción del SP, lo que confirma lo observado empíricamente en humanos⁶. El efecto estimulante de la hidrocortisona y betametasona fueron significativos, pero menores al de la aminofilina,

Los corticoides presentan mayor efectos colaterales indeseables, lo cual limita su uso⁷. Cabe la posibilidad de que en los humanos, los corticoides pudieran remplazarse por la aminofilina si se comprueba un efecto similar.

El efecto estimulante del ambroxol también fue significativo; pero menor que la aminofilina,

La terbutalina no estimuló la producción del SP fetal, al administrarlo por vía subcutánea en ratas gestantes; pero hay informes en que se menciona que sí estimula la producción del surfactante pulmonar en fetos de conejos al administrarla directamente a ellos por vía intramuscular¹⁸.

Dado que existe un alto índice de neonatos prematuros que presentan el síndrome de insuficiencia respiratoria, es conveniente contar con nuevos fármacos que favorezcan la madurez pulmonar y que tengan menos efectos colaterales indeseables y les permita adaptarse a la vida extrauterina.

Sería interesante estudiar mas las dosis y tiempos de aplicación óptimos, así como estudiar los sinergismos o antagonismos entre estos medicamentos, lo cual será motivo de otro estudio.

CONCLUSION

La aminofilina, la hidrocortisona, la Dexametasona y el ambroxol tuvieron efecto estimulante de la producción de surfactante pulmonar en fetos de ratas prematuras. De ellos, la aminofilina tuvo el mayor efecto estimulante.

BIBLIOGRAFIA

1. Clements J A: Functions of the alveolar lining. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1977;115(Suppl):67-71.
2. Farrel PM y Avery MC: Hyaline membrane disease. *Am. Rev. Dis.* 1975;111:657.
3. Weller K N y Karnovski J M: Improved isolation of rat lung alveolar Type II cells. More representative recovery and retention of cell polarity. *The American Journal of Pathology* 1986;122:92-100.
4. Scarpelli ME y Auld MP: Fisiología respiratoria del feto recién nacido y niño. Salvat Editores, S.A. Barcelona. España, 1979; 99-118.
5. Colin T J y Timothy P R: Metabolism during fetal life: A functional assessment of metabolic development *Physiological Reviews* 1985;65: 357-430.
6. Soyka L F: Clínicas de perinatología, Interamericana 1979;1:37-52.
7. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Ed. Médica Panamericana 1982;50.

8. Ekelund L, Birgoyne R y Enhorning G: Pulmonary surfactant release in fetal rabbits: Immediate and delayed response to terbutaline. *Am. Obstet. Gynecol.* 1983;15:437-443.
9. Grannum T P, Berkovitz L R y Hobbins C J: The ultrasonic changes in the maturing placenta and their relation to fetal pulmonary maturity. *Am. J. Obstet Gynecol.* 1979;133:915-922.
10. Ekelund L, Arvidson G: Amniotic fluid lecithin and its fatty acid composition in respiratory distress syndrome. *The Journal of Obstetrics and Gynecology* 1973; 80:912-917.
11. Nelson H G: Relationship between amniotic fluid lecithin concentration and respiratory distress syndrome. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1972;112:827-833.
12. Clements J A: Pulmonary surfactant. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1971;101:984.
13. Avery E M y Fletcher D B: El pulmón del recién nacido y sus enfermedades. Tercera Edición. Ed. Científico Médica. Barcelona, España, 1978;230-233.
14. Marley C J, Banghan A D, Miller N y David J A: Dry artificial surfactant and its effect on very premature babies. *Lancet* 1981;1: 64-69.

15. Hallman M, Merritt T A, Schneider H, et al: Isolation of human surfactante from amniotic fluid and a pilot study of its efficacy in respiratory distress syndrome. *Pediatric* 1981;71:473-482.
16. Hallman M, Merritt A, Janunpan A, Boyton B, Mannimo F, Gluc L, Moore T y Edwards D,: Exogenos human surfactant for treatment of severe respiratory distress syndrome. A randomised prospective clinical trial. *J. Pediatr*, 1985;106:963-969.
17. Wilkinson A, Jenkins P A y Jeffery J A: Two controlled trial of dry artificial surfactant: Early effects and later ourcome in banies with surfactant deficiency. *Lancet* 1985;1:287-291.
18. Torrey Th: Morfogénesis de los vertebrados, Tercera Edición. Ed. Limusa. México, 1978;322-333.
19. Kikkawa Y, Yoneda K, Smith F, Packard B y Suzuki K: The Type II epithelial cell of the lung: Its chemical composition and phospho lipid syntesis. *Lab. Invest.* 1975;32:295-302.
20. Hellman L M y Pritchard J W: *Obstetricia*, Ed. Salvat, Barcelona España, 1979;893-894.
21. Sidney S: *Estadísticas no paramétricas*. Ed. Trillas México 1976.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
Facultad de Ciencias

Expediente

Número 502/85

Srita. Marcela Cardona Campos
P r e s e n t e . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido -
aprobado el tema de tesis "Comparar el efecto estimulante en
la producción del surfactante pulmonar de varios farmacos en
fetos prematuros de las ratas" para obtener la Licenciatura-
en Biología, con Orientación Biomédica.

Al mismo tiempo informa a usted que ha sido acep-
tada como Directora de dicha Tesis la Q.F.B. Rosa María Pue-
bla Pérez.



FACULTAD DE CIENCIAS

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Septiembre 3 de 1985.

El Director


Ing. Edmundo Ponce Adame.

El Secretario

Arq. Mario Patricio Castillo Paredes.

c.c.p. La Q.F.B. Rosa María Puebla Pérez, Directora de Tesis.-
Pte.
c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd

BOULEVARD A TLAQUEPAQUE Y CORREGIDORA, S. R.,
GUADALAJARA, JAL.

TELEFONOS 17-58-29 Y 17-48-17

Guadalajara, Jal., 24 de Abril de 1986.

Ing. Edmundo Ponce Adame.
Director de la Facultad de Ciencias de la
Universidad de Guadalajara.

P R E S E N T E.

Por medio de la presente informa a usted que he revisado la tesis titulada "COMPARACION DEL EFECTO ESTIMULANTE EN LA PRODUCCION DEL DEL SURFACTANTE PULMONAR DE VARIOS FARMACOS EN FETOS PREMATUROS DE LAS RATAS" de la pasante de Lic. en Biología Marcela Cardona Campos, la cual apruebo para que sea impresa y para que la menoi nada Srita. Cardona Campos presente sus exámenes de tesis y profesional.

Sin más por el momento y agradeciendo la atencion que se sirva prestar a la presente, quedo de usted afectisima y segura servidora.

A T E N T A M E N T A.


Q.F.B. Rosa María Puebla Pérez.
Director de Tesis.