



Universidad Veracruzana

UNIVERSIDAD VERACRUZANA
SERVICIOS DE SALUD DE VERACRUZ
HOSPITAL DE ALTA ESPECIALIDAD DE
VERACRUZ



SUBDIRECCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO
**CORRELACION DEL CONTEO DE CUERPOS LAMELARES Y SINDROME
DE DISTRES RESPIRATORIO EN NEONATOS
HOSPITAL ALTA ESPECIALIDAD VERACRUZ**

Para obtener el título de especialista en:
GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

Presenta
DR. ALFREDO RAMIREZ CARDENAS

Director de tesis
DR. AVELINO GUARDADO SANCHEZ

Director Metodológico
M.C.E MARÍA ANTONIA HERNÁNDEZ MANZANARES

Veracruz, Ver. Febrero 2014



CORRELACION CONTEO DE CUERPOS LAMELARES Y SINDROME DE
DISTRES RESPIRATORIO EN NEONATOS HOSPITAL ALTA
ESPECIALIDAD VERACRUZ

“CORRELACION CONTEO DE CUERPOS LAMELARES Y SINDROME DE DISTRES RESPIRATORIO EN NEONATOS HOSPITAL ALTA ESPECIALIDAD VERACRUZ.”

Autores: Dr. Alfredo Ramírez Cárdenas, Dr. Avelino Guardado Sánchez, Dr. Rafael Darío Zavaleta García, Q.C. Elvis Efraín Sánchez Marce, MCE. María Antonia Hernández Manzanares.

Resumen:

Introducción: Actualmente la prematuridad representa un gran reto, condicionante para el aumento de morbi-mortalidad neonatal y morbilidad infantil a mediano y largo plazo.

Objetivo: Determinar punto de corte en conteo de cuerpos lamelares que establezca madurez pulmonar fetal y su utilidad clínica en predicción de gravedad síndrome de dificultad respiratoria neonatal (SDR).

Material y métodos: Estudio clínico prospectivo, transversal correlacional, universo pacientes embarazadas, criterios inclusión 28 a 40 semanas de gestación que acudan resolución embarazo, acepten firmar consentimiento informado especificando, obtención muestras de líquido amniótico por amniocentesis transabdominal bajo control ecográfico, indicado final embarazo, en cesáreas electivas la punción se tomó en membranas embrionarias visibles en acto quirúrgico, conteo de cuerpos lamelares se estimó en muestras de líquido amniótico centrifugadas con Analizador Advia. Periodo junio a octubre 2013, Hospital Alta Especialidad Veracruz. Muestreo no probabilístico a conveniencia Se aplicó estadística descriptiva. SDR evaluado por neonatólogo sin conocer resultado conteo de cuerpos lamelares.

Resultados: Se incluyó 71 pacientes, < 36 SDG 46.7% y >36 SDG 53.3%, asociación de gestaciones avanzadas con presencia de elevadas cantidades de cuerpos lamelares ($P < 0.0001$), SDR en 20 neonatos, fetos con <36 SDG media 22.4 ± 1.895 de cuerpos lamelares ($P < 0.0001$), comprobando que a partir de 35 000 cuerpos lamelares ningún neonato obtuvo calificación de Silverman.

Conclusión: Se demostró que a mayor edad gestacional mayor cantidad de cuerpos lamelares y menor severidad SDR. Se demostró el punto de corte es $\geq 35\ 000/\mu\text{L}$ para predecir madurez pulmonar.

“ASSOCIATION BETWEEN LAMELLAR BODY COUNT AND RESPIRATORY DISTRESS SYNDROME IN NEONATES AT VERACRUZ HIGH SPECIALITY HOSPITAL”

Authors: Dr. Alfredo Ramirez Cardenas , Dr. Avelino Guardado Sanchez, Dr. Rafael Dario Zavaleta Garcia, Q.C. Elvis Efraín Sánchez Marce , MCE. María Antonia Hernández Manzanares.

Abstract:

Introduction: Prematurity is one of the current challenges premature babies being a condition for increased neonatal morbidity and mortality and morbidity child medium and long term.

Objective: To determine the lamellar body count (LBC) cutoff value for fetal lung maturity and to evaluate the clinical usefulness of LBC in predicting the severity of neonatal respiratory distress syndrome (RDS).

Material y methods: This was a Prospective and cross-correlation study, was conducted from June to October 2013 at Veracruz High Speciality Hospital, Amniotic fluid samples were obtained from women pregnancies with 28-40 gestational weeks who underwent transabdominal amniocentesis under ultrasound control for fetal lung maturity determination because of inevitable delivery and from those who underwent elective cesarean deliveries by puncturing visible embryonic membranes. LBC was estimated in uncentrifugated amniotic fluid samples using the Advia 120 analyzer and its platelet channel. The neonatal respiratory status and existence of Respiratory Distress Syndrome were reviewed by attending neonatologists, who had not been informed about the LBC. Non-probability convenience sampling was applied to descriptive statistics. **Results:** The final study group included 71 pregnant women, Distribution of cases by < 36 weeks 46.7 % and >36 weeks 53.3 %, Advanced gestational age was associated with higher LBC ($P = < 0.0001$), RDS was diagnosed in 20 neonates, we also found in the group of fetus <36 weeks Median range 22.4 ± 1.895 of LBC ($P = < 0.0001$), it was shown in value of $\geq 35,000/\mu$ LBC did not get Silverman calcification.

Conclusion: It was shown that the older gestation had higher amount of LBC and less severe RDS. This study shows that LBC cutoff value of $\geq 35,000/\mu$ L can predict pulmonary maturity.

INDICE:

INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES.....	2
JUSTIFICACIÓN.....	8
OBJETIVOS.....	9
METODOLOGÍA.....	10
RESULTADOS.....	12
DISCUSIÓN.....	13
CONCLUSIONES.....	14
BIBLIOGRAFÍA.....	15
TABLAS.....	18
GRÁFICOS.....	19
ANEXOS.....	22

Introducción

Desde que se comenzó a investigar el síndrome de Distres Respiratorio que presentaban los neonatos pretérmino, se efectuaron gran cantidad de pruebas diagnósticas, de las cuales la mayoría son difíciles de realizar y los costos son elevados, sin embargo a finales de la década de los ochenta Stuart B. Dubin presentaron un nuevo método de diagnóstico mediante lectores de Biometrías Hemáticas que logró el conteo electrónico de cuerpos lamelares ya que su tamaño muy similar a de la plaqueta le permitían ser evaluados de una forma cuantitativa, permitiéndole a este método superar a sus antecesores y prometer ser una de las pruebas de madurez pulmonar más aceptadas y de mayor sensibilidad y especificidad respecto a las demás, que había en el mercado además de ser fácil, rápida y de bajo costo. Desde finales de los ochenta cuando empezaron a salir publicaciones a nivel internacional del uso de conteo de los cuerpos lamelares se ha tratado de determinar su utilidad con respecto a las demás pruebas de madurez pulmonar, sin embargo pese a todos estos estudios que se han hecho por una década no se ha podido obtener el corte preciso para predecir la adecuada madurez pulmonar que necesitara el feto al nacer. El Colegio Americano de Ginecología y Obstetricia en su boletín del 2011 recomienda realizar pruebas de madurez pulmonar fetal en todas aquellas cesárea programadas antes de las 39 semanas, dando un rango de madurez para la prueba de conteo de cuerpos lamelares entre 33 000 a 40 000, haciendo el comentario que aún se mantiene en estudio esta prueba ya que no se tiene ningún estudio que demuestre el verdadero corte que demuestre con certeza el grado de madurez pulmonar con el que cuenta el feto, siendo esta prueba factible de realizar en nuestro medio y de gran utilidad clínica, se decidió investigar ¿Cuál es el punto de corte en el conteo de cuerpos lamelares que determine la madurez pulmonar fetal y la utilidad clínica en la predicción de la gravedad del síndrome de dificultad respiratoria neonatal?

Antecedentes

El conocimiento profundo de la embriología pulmonar fetal es necesario para entender la patología de las afecciones respiratorias en el recién nacido, cuando el embrión tiene aproximadamente cuatro semanas, aparece el primordio del aparato respiratorio en forma de invaginación de la pared ventral de intestino anterior. En el día 33 tiene lugar la división en sus dos ramas. El bronquiolo principal comienza a formarse en el día 37 comenzando en ese momento la diferenciación de la vía aérea lobar, posteriormente la diferenciación segmentaria ocurre alrededor del día 42. Morfológicamente el desarrollo pulmonar fetal está dividido en tres etapas: La etapa pseudoglandular, entre la semana 8^o y la 16^o, se caracteriza por la división progresiva de los bronquiolos terminales hasta completar entre 12 y 23 divisiones de la vía aérea, las estructuras periféricas en esta etapa del desarrollo son los bronquiolos terminales, al término de este periodo las células del epitelio respiratorio ya tienen una diferenciación rudimentaria, las arterias, las venas y la vía aérea, están dispuestas en un patrón similar al adulto. La segunda etapa denominada canalicular, comprendida entre la 17 y la 27 semana de gestación, consiste en la aparición de canales vasculares que se aproximan a los espacios aéreos en formación, este período comprende el paso de un pulmón no viable a un pulmón potencialmente viable caracterizado por aparición de las unidades acinares, desarrollo de la barrera alveolocapilar y comienzo de la síntesis de surfactante, de las 20 a 22 semanas de gestación las células que van a dar origen a los neumocitos tipo I y II ya pueden ser reconocidas. En neumocitos tipo II aparece en su citoplasma glucógeno y cuerpos lamelares que indican el comienzo de la producción de surfactante por el pulmón fetal. La tercera etapa llamada sacular comprende el período desde las 28 semanas hasta el término de la gestación. Ocurre en este período la disminución del espesor del intersticio, la aparición de los tabiques en los sáculos terminales y el adelgazamiento del epitelio.^{1,2,3}

Antes del nacimiento los pulmones se encuentran ocupados por líquido de alta concentración de cloro, escasa proteínas así como una sustancia surfactante formada por las células epiteliales tipo II, el fluido pulmonar se produce aproximadamente de 4 a 5 cc/kg/hr que mantiene el volumen de una capacidad residual funcional, la circulación va desde la vía aérea saliendo por la traquea hacia el espacio amniótico cuya composición principal es dada por excreción de la orina fetal siendo la segunda fuente la secreción de grandes volúmenes diarios de los pulmones fetales, posteriormente se genera una diferencia de presión entre el pulmón y el espacio amniótico que mantiene distendida la vía aérea y los alvéolos hasta el momento del nacimiento donde la mayor parte del líquido que ocupaba los pulmones es reabsorbido rápidamente por los capilares sanguíneos y linfáticos, permaneciendo el surfactante depositado en forma de capa delgada de fosfolípidos sobre las membranas alveolares, formando una tensión superficial la cual si no existiera se produciría el colapso alveolar durante la fase espiratoria.^{4,5}

La deficiente cantidad y calidad del complejo surfactante tiene como consecuencia la aparición del Síndrome de Distres respiratorio en el neonato, lo cual conduce a altas tensiones superficiales en el alveolo, interfiriendo con el intercambio de gases, presentando manifestaciones clínicas como taquipnea, frecuencia respiratoria mayor de 60, aleteo nasal, quejido respiratorio, la retracción de los músculos accesorios de la respiración y cianosis el cual es el reflejo del trastorno en la oxigenación cuando la Hemoglobina desoxigenada es mayor de 5g/dl., su incidencia varia inversamente con la edad gestacional, siendo aproximadamente de más 80 % a las 24 semanas de gestación, 70 % a las 28 semanas de gestación, 25 % a las 32 semanas de gestación y del 3-5 % a las 36 semanas de gestación, con un discreto predominio en el sexo masculino, dentro de los métodos de evaluación y clasificación del recién nacido se encuentra la escala de Silverman-Andersen, este método evalúa el grado de dificultad respiratoria del recién nacido con un puntaje de 0 al 10, generalmente se aplica a partir de los 10

minutos de vida, de 1 a 2 dificultad respiratoria leve, 3 a 4 dificultad respiratoria moderada y ≥ 5 dificultad respiratoria severa.

La importancia de la tensión superficial en la fisiología pulmonar se empezó a reconocer a mediados de los años 20 del siglo pasado, en 1959 Avery y Mead descubrieron que la resistencia de los alveolos pulmonares al colapso durante la respiración se debía, principalmente, a la presencia de un material reductor de la tensión superficial, que reviste los alveolos, posteriormente Glucky y cols. en 1971 realizan un estudio sobre la relación Lecitina- Esfingomielina (L/E), primer examen bioquímico usado para determinar madurez pulmonar antenar, en la actualidad continua siendo el método más usado y se mantiene como referencia para la comparación de otras técnicas, por otro lado la prueba de Fosfatidilglicerol, es un fosfolípido de los componentes del surfactante que marcan el inicio de madurez pulmonar en el feto, la mayoría de estas pruebas, se basan en la detección de alguno de los componentes del surfactante liberados al líquido amniótico por el pulmón fetal ⁷.

Desde que se comenzó a investigar el Síndrome de Distres Respiratorio, se realizaron gran cantidad de pruebas diagnósticas, la mayoría son difíciles, requieren personal con alto grado de capacitación, muestras de líquido amniótico voluminosas, un tiempo prolongado para procesamiento y costos elevados, sin embargo a finales de la década de los ochenta Stuart B. Dubin realizaron un nuevo método de diagnóstico: el conteo electrónico de cuerpos lamelares, los cuales se encuentran en estrecha relación con el sistema alveolar, en donde se encuentran dos tipos de células epiteliales, los neumocitos tipos I y II y los macrófagos. Los neumocitos tipo I cubren el 95% de la superficie alveolar, los macrófagos están involucrados en la remoción de surfactante y de microorganismos, los neumocitos tipo II son responsables de la síntesis, empaquetamiento y secreción del surfactante pulmonar, caracterizándose principalmente por la presencia de cuerpos lamelares de 0.2 a 2 μm de diámetro que constituyen un 18 a 24% del citoplasma ⁸.

Estos cuerpos lamelares son la forma de almacenamiento del surfactante pulmonar, que tiene como propósito reducir la tensión superficial para evitar el colapso alveolar, actividad antioxidante, la inhibición de la exudación de líquido desde el capilar hacia el alvéolo y la defensa contra la infección pulmonar, pueden estar rodeados por una membrana, además de tener un núcleo compuesto de membranas multilamelares, contienen enzimas lisosomales y apolipoproteínas, para su formación es posible que el material membranoso, proveniente del retículo endoplásmico de las mitocondrias o de otras estructuras, los componentes lipídicos que se incorporan a los Cuerpos Lamelares se originan en diferentes sitios: la fosfatidilcolina en el retículo endoplásmico, la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina en las mitocondrias, la esfingomielina en el aparato de Golgi y el colesterol en el retículo endoplásmico o por endocitosis⁹.

El surfactante pulmonar está compuesto de lípidos, de los cuales el fosfolípido es el 80% de su composición, la fosfatidilcolina es el fosfolípido más abundante en el surfactante y es el 80% del total, el fosfatidilglicerol es el segundo fosfolípido más abundante del surfactante, representa aproximadamente el 13% de todos, su secreción del surfactante ocurre por exocitosis de los Cuerpos Lamelares, proceso que inicia con la fusión de membranas, el calcio interviene en el acoplamiento entre el estímulo y la secreción y en el mecanismo de la exocitosis de los cuerpos lamelares, después de la fusión de las membranas, el surfactante puede ser internalizado nuevamente a los cuerpos lamelares y secretado; de 25% a 95% del surfactante pulmonar hace reciclaje; ambos procesos pueden estar regulados en forma concurrente¹⁰.

Cuatro proteínas específicas de surfactante han sido caracterizadas y sus funciones en parte dilucidadas SP-A SP-B, SP-C y SP-D (26). de las más importantes se encuentran la proteína de surfactante A (SP-A) es una proteína de 33 kDa, codificada por un gen en el cromosoma 10, en su forma madura parece ser importante en la regulación del metabolismo del surfactante, aumentando la reabsorción de fosfolípidos, inhibiendo su secreción por los neumocitos tipo II, la proteína de surfactante B (SP-B) es una proteína hidrofóbica de 7 kDa codificada

por un gen ubicado en el cromosoma 2, tiene como función principal estabilizar la monocapa lipídica, es un componente esencial del surfactante, su ausencia o inactivación produce grandes trastornos en la función respiratoria del recién nacido, además de estas cuatro proteínas recientemente se ha descrito la deficiencia del transportador ABCA3 como una causa grave del síndrome de Distres Respiratorio en recién nacidos a término presentando deficiencia de surfactante pulmonar. El transportador ABCA3 pertenece a una familia de transportadores llamada ATP binding cassette transporters la cual se encuentra en el límite de la membrana de los cuerpos lamelares en las células tipo II ¹¹.

Mediante la técnica de conteo de cuerpos lamelares se calcula cuantitativamente la producción de surfactante y por lo tanto puede predecir el grado de la maduración pulmonar fetal, sin embargo, no está claramente establecido protocolos y valores de corte para el conteo de cuerpos lamelares en nuestra población que permitan predecir el grado de severidad del Síndrome de Distres Respiratorio, los niveles de cuerpos lamelares pueden variar por varios factores, es decir, la centrifugación, la contaminación de la muestra por meconio o plaquetas de la sangre, infección intramniótica misma que condiciona un aumento de los cuerpos lamelares además de la vía de obtención ^{12,13,14,15}.

El Colegio Americano de Obstetras y Ginecólogos recomienda la documentación de la madurez pulmonar fetal en los partos electivos a menos de 39 semanas de gestación para evitar el SDR neonatal.¹⁶ Hay varias pruebas prenatales para la maduración pulmonar. Dependiendo de los estudios publicados los valores de corte de cuerpos lamelares que predicen la ausencia de síndrome de dificultad respiratoria varían de 20 000 hasta 50 000/ul, con diferentes tipos de contadores electrónicos de partículas¹⁷

En Italia Juan Piazze y cols., en el Instituto Universitario de Ginecología, Perinatología y salud del niño, “La Sapienza” realizaron un estudio prospectivo con una muestra de 227 reportando tras la obtención de muestras de líquido amniótico que los mejores cortes para predecir taquipnea transitoria en el neonato es por debajo de 35,000 cuerpos lamelares, presentando una sensibilidad de 86%, y

especificidad de 75 %, valor predictivo positivo del 22% y valor predictivo negativo de 96%.¹⁸

En Japón Hiroyuki Tsuda y cols., publicaron como valor de corte de conteo de cuerpos lamelares en 48,500 / ml³ teniendo una sensibilidad de 84,7%, el 76,2% de especificidad y 98,1% negativo valor predictivo para predecir taquipnea transitoria en el neonato, el conteo de los cuerpos lamelares en los recién nacidos con Taquipnea transitoria fue significativamente menor que en los controles (50.000 frente a 122.000;- p 0,001) y significativamente mayor que en los recién nacidos con síndrome de Distres respiratorio (50.000 frente a 21.000; p 0.042)¹⁹, en Estados Unidos de Norte América [Zhao Q](#) y cols., en el Departamento de ginecología y obstetricia de la Universidad de Washington reportaron un total 223 pacientes un corte de 50, 000 cuerpos lamelares con una sensibilidad entre 84 y 100 % y especificidad 98%²⁰.

El tipo de analizador de recuento de partículas utilizado es de gran importancia en el establecimiento de los valores de corte, por lo que se ha propuesto el modelo Advia 120 para este estudio, el manejo y el pronóstico perinatal de los embarazos de alto riesgo se basa principalmente en la certeza de la madurez pulmonar por lo que se pretende con esta investigación obtener resultados que posibiliten en el futuro realizar el diagnóstico de la madurez fetal mediante el conteo de los cuerpos lamelares.

Justificación

La prematuridad es uno de los grandes retos de la obstetricia. Los progresos realizados durante los últimos años en el campo de la medicina fetal han hecho posible el aumento de la supervivencia de los recién nacidos de bajo peso. Sin embargo, persiste la gran asociación con una serie de complicaciones respiratorias, visuales, auditivas, neurológicas, cognitivas y de comportamiento en el neonato. La prematurez al momento del parto es sin duda un condicionante para el aumento de la morbi-mortalidad neonatal y de la morbilidad infantil a mediano y largo plazo mismo que tiene un impacto profundo en el alto costo sanitario y social en nuestra población ²¹.

A partir de los datos aportados por la OMS, con las tasas actuales de prematuridad, se esperan aproximadamente 14.000.000 de pretérmino al año en el mundo. En México las afecciones originadas en el periodo perinatal constituyen la primera causa de muerte y explican la mitad de las defunciones infantiles, entre las causas directas que conforman este grupo se encuentran, en orden de importancia, la dificultad respiratoria del recién nacido 4,011 defunciones, la tasa de mortalidad infantil por esta causa en 2010, se ubica en 746 muertes por cada cien mil nacimientos ^{22,23}.

En 2011 el Hospital de alta especialidad de Veracruz presentó un total de 4500 nacimientos, divididos en 2 500 cesáreas y 2 000 partos, de los cuales 78 neonatos presentaron Síndrome de Distres Respiratorio. No se cuenta en este hospital con ninguna prueba de madures pulmonar, lo que conlleva que el estudio de conteo de cuerpos lamelares sea una herramienta factible en aquellos casos en que la decisión médica es de trascendental importancia en los embarazos de alto riesgo y en los cuales a causa de la patología maternas impedirán llegar a término.

Objetivos

Objetivo General: Determinar el punto de corte en el conteo de cuerpos lamelares de los recién nacidos que establezca la madurez pulmonar fetal y evalúe la utilidad clínica en la predicción de la gravedad del síndrome de dificultad respiratoria neonatal de Junio a Octubre 2013 en un hospital de tercer nivel

Objetivos Específicos:

Establecer la madurez pulmonar fetal de los recién nacidos pretérmino antes de 37 semanas de gestación durante el periodo Junio a Octubre 2013 en un hospital de tercer nivel

Estandarizar procesamiento de muestra de líquido amniótico de los recién nacidos pretérmino antes de 37 semanas de gestación durante el periodo Junio a Octubre 2013 en un hospital de tercer nivel

Correlacionar el rango de cuerpos lamelares con la edad gestacional de los recién nacidos pretérmino antes de 37 semanas de gestación durante el periodo Junio a Octubre 2013 en un hospital de tercer nivel

Evaluar la utilidad clínica del punto de corte en el conteo de cuerpos lamelares de los recién nacidos pretérmino antes de 37 semanas de gestación que establezca la madurez pulmonar fetal en la predicción de la gravedad del síndrome de dificultad respiratoria neonatal durante el periodo Junio a Octubre 2013 en un hospital de tercer nivel

Metodología

El presente estudio se realizó en de las instalaciones de Tococirugía del servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital de Alta Especialidad de Veracruz del mes de junio al mes octubre de 2013, estudio clínico prospectivo, transversal y correlacional.

Participantes

Universo pacientes embarazadas, criterios de inclusión de 28 a 40 semanas de gestación que acudan para la resolución del embarazo, que acepten firmar el consentimiento informado.

Material e Instrumentos.

Para la toma de amnioscentesis se utilizó aguja 20G x 180 mm la cual contaba con cánula posicionador ajustable para determinar la profundidad de la inserción de la aguja y de una unión luer lock para la recolección del líquido amniótico por medio de una jeringa, ultrasonido Medison Sonoace con transductor convexo de 3.5 Mhz, las muestras fueron procesadas con analizador Advia modelo 120. Las muestras recolectadas en el acto quirúrgico se utilizó jeringa estéril de 5cc.

Procedimiento

Se efectuó estudio clínico, transversal, prospectivo, con una duración del 01 de junio al 31 de octubre del 2013, en pacientes del área de consulta externa y urgencias del Hospital de Veracruz con previa aprobación local del Comité de Ética e Investigación del Hospital de Alta Especialidad de Veracruz, y previa firma de la Carta de Consentimiento Informado de las pacientes que se invitó a participar en este estudio. Pacientes embarazadas de 28 a 40 semanas de gestación que acudieron a consulta al Hospital de Alta Especialidad de Veracruz para la resolución de su embarazo, la obtención de muestras de líquido amniótico se realizó por medio de amniocentesis transabdominal bajo control ecográfico en las pacientes con embarazos 28 a 40 semanas de gestación en las cuales se

había indicado la finalización del embarazo y en aquellas que se sometieron a cesáreas electivas la punción se efectuó a través de las membranas embrionarias visibles en el acto quirúrgico, ambos tipos de muestra fueron tomadas por el equipo de expertos. Las muestras se enviaron de inmediato a laboratorio para su proceso, se centrifugarán a 300g= 5 min a una temperatura de 20 C, puesta en tres diferentes tubos de ensayo obteniendo la cantidad de cuerpos lamelares de cada uno de ellos para posteriormente sacar un promedio de los tres, el tipo de analizador de recuento de partículas utilizado es el modelo Advia 120, el equipo se calibra una vez al día por el personal capacitado por la jefatura del departamento mismos que son los encargados de procesar las muestras. El grado de distres respiratorio presentado por el neonato fue evaluado por el pediatra en turno.

El análisis se aplicó estadística descriptiva, e inferencial para la determinación de medias, medianas y método de correlación de Spearman. Se utilizó el paquete estadístico GRAPHPAD PRISM versión 6.0 y el paquete estadístico STATISTICA versión 7.0

Resultados

Total 83 pacientes, 71 cumplió con criterios de inclusión, en embarazo < 36 SDG las enfermedades maternas presentes fueron en 53.3 % preeclampsia y Diabetes Pregestacional 6.06 % y en > 36SDG 18.42 % preeclampsia y 2.63 % (tabla 1), rango de edad materna de 16 a 37 años, el 100% finalizó el embarazo vía cesárea, se observa asociación en edades gestacionales avanzadas y presencia de elevadas cantidades de cuerpos lamelares, mediante la prueba diagnóstica de Spearman se obtiene una correlativa lineal $P = < 0.0001$ media 71.7 $r = 7.2$ (grafica 1), Síndrome de Distres Respiratorio en 20 neonatos, 11 grado leve, 9 grado moderado, 0 grado severo, del grupo de fetos < 36 semana, media 22.4 ± 1.895 de cuerpos lamelares con $r = 1.895$ del grupo de >36 SDG media de 87 ± 8.4 $r = 8.489$ con una $P = < 0.0001$ (grafica 2) , en la correlación positiva inversa de los cuerpos lamelares y el grado de severidad del Síndrome de Distres Respiratorio (grafica 3), se observa que a partir de los 35 000 cuerpos lamelares ningún neonato obtuvo calificación de Silverman al ser valorado por el neonatólogo.

Discusión

Este estudio demuestra que el corte de la cantidad de Cuerpos Lamelares que predicen madurez pulmonar neonatal es $\geq 35,000/\mu\text{L}$, ya que a partir de esta cifra ya no se presenta en los neonatos datos de Distres Respiratorio, obteniendo Silverman de 0, se utilizó el analizador Advia 120 ya que en la mayoría de estudios reportados en la literatura internacional lo usaron, a diferencia del estudio de Hiroyuki Tsuda y cols., en Japón, quienes reportan como valor de corte de conteo de Cuerpos Lamelares $48,500 / \text{ml}^3$, realizado con diferente tipo de analizador (Sysmex SF-3000), además que sus muestras no fueron centrifugadas, en cambio se obtiene resultados semejantes a los de Juan Piazze y cols., en el Instituto Universitario de Ginecología, Perinatología y salud del niño, ‘La Sapienza’ en Italia donde determinan madurez pulmonar con $\geq 35,000/\mu\text{L}$ Cuerpos Lamelares, en este caso también se utilizó diferente analizador (Coulter counter) en este estudio si se centrifugó la muestra, sacando un promedio de los 3 resultados obtenidos de la misma muestra, como en esta investigación.

En este estudio se obtuvo una media de Cuerpos Lamelares de 87 ± 8.4 en el grupo de pacientes > 36.6 semanas de gestación, en pacientes que por la edad gestacional son considerados de término, también se demuestra la correlación directa que hay entre la edad la edad gestacional y la cantidad de Cuerpos Lamelares, entre más edad gestacional más alta concentración de Cuerpos Lamelares, con diferencias significativas en el conteo de los mismos en el líquido amniótico entre los recién nacidos sanos y aquellos con Síndrome de Distres Respiratorio. Esto demuestra que la edad gestacional es un factor independiente, sin embargo con un fuerte impacto en el conteo de los Cuerpos Lamelares, De acuerdo a lo observado en estos resultados se demuestra que la calificación más alta de Silverman y mayor grado de severidad de Síndrome Distres Respiratorio se presentó en los neonatos que obtuvieron los conteos de Cuerpos Lamelares más bajos, comprobando la hipótesis arriba de $35\ 000/\mu\text{L}$ el grado de Distres Respiratorio es menor.

Conclusiones

El Conteo de Cuerpos Lamelares es una prueba con valor predictivo, útil, rápida para evaluar la madurez pulmonar fetal en fetos de alto riesgo en esta población. Se comprobó la hipótesis el punto de corte del conteo de Cuerpos Lamelares es $\geq 35,000/\mu\text{L}$ no presentan grado de Distres Respiratorio, es una herramienta factible en los casos en que la decisión médica es de trascendental importancia en embarazos de alto riesgo en los cuales la patología materna le impide llegar a término.

Por lo que se sugiere la implementación de esta prueba como parte del protocolo en la Guía Clínica basada en la evidencia obtenida en esta investigación, (anexo 2).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Burri PW: Development and growth of the human lung. In Fishman AP, Fisher AB (eds): Handbook of Physiology: The Respiratory System. Bethesda, MD, American Physiologic Society, 1985, pp 1-46.
2. Moss TM, Newnham J, Willet K, et al: Early gestational intra-amniotic endotoxin: Lung function, surfactant and morphometry. Am J Respir Crit Care Med 165:805-811, 2002.
3. Brophy BP, Robillard JE: Functional development of the kidney in utero. In Polin RA, Fox WW, Abman SH (eds): Fetal and Neonatal Physiology, Philadelphia, Saunders, 2004, p 1229.
4. Jauniaux E, Hempstock J, Teng C, et al: Polyol concentrations in the fluid compartments of the human conceptus during the first trimester of pregnancy: Maintenance of redox potential in a low oxygen environment. J Clin Endocrinol Metab 90:1171-1175, 2005.
5. Whitsett JA, Wert S: Molecular determinants of lung morphogenesis. In Chernick V, Boat TF, Wilmott RW, Bush A (eds): Kendig's Disorders of the Respiratory Tract in Children. Philadelphia, Saunders/Elsevier, 2006, pp 1-16.
6. [Pérez-Gil, J.](#) Structure of pulmonary surfactant membranes and films: The role of proteins and lipid-protein interactions, [Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes](#), Volume 1778, Issue 7-8, July 2008, Pages 1676-1695
7. Winn-McMillan T, Karon BS. Comparison of the TDx-FLM II and Lecithin to Sphingomyelin ratio assays in predicting fetal lung maturity. Am J Obstet. Gynecol. 2008;193:778-82 (level II-3)
8. Mary Beth Janicki1, Lisa M. Dries, James F. X. Egan, Carolyn N. Zelop, Determining a cutoff for fetal lung maturity with lamellar body count testing, The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine, May 2009; 22(5): 419-422

9. Andreeva, A.V., Kutuzov, M.A., Voyno-Yasenetskaya, T.A. Regulation of surfactant secretion in alveolar type II cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol* 2007,293, L259–L271.
10. Sandra Orgeig, Janna L. Morrison, Christopher B. Daniels, Prenatal development of the pulmonary surfactant system and the influence of hypoxia, *Respiratory Physiology & Neurobiology* 178 (2011) 129– 145
11. Yadav AK, Madan T, Bernal AL. Surfactant proteins A and D in pregnancy and parturition. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011 Jan 1;3:291-300.
12. Susan P. WALKER, Yvonne Y. C. CHOW, Antoni M. UGONI, James R. HOLBERTON, Carole L. SMITH and Michael J. PERMEZEL, Amniotic fluid lamellar body concentration as a marker of fetal lung maturity at term elective caesarean delivery, *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 50: 358–362, 2010
13. Hiroyuki Tsuda, Yuichiro Takahashi, Shigenori Iwagaki, Ichiro Kawabata, Hiromi Hayakawa, Tomomi Kotani, Kiyosumi Shibata, Fumitaka Kikkawa, Intra-amniotic infection increases amniotic lamellar body count before 34 weeks of gestation, *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*; 23(10): 1230–1236, 2010
14. Jovana Višnjevac, Aleksandra Novakov-Mikić, Aleksandra Nikolić, The ways of amniotic fluid sampling and its influence on lamellar body count, *Med Pregl* ; LXIII (7-8): 483-486. 2010
15. Janicki MB, Dries LM, Egan JFX, Zelop CM. Determining a cutoff for lung maturity with lamellar body count testing. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2009; 22:419–22. doi: 10.1080/14767050902801710.
16. ACOG Practice Bulletin. Madurez pulmonar fetal *Obstet Gynecol* 2010; 112:717-26. doi: 10.1097/AOG.0b013e318188d1c2
17. Christina M. Lockwood, J. Chance Crompton, Joan K. Riley, Keith Landeros, Dennis J. Dietzen, David G. Grenache, Ann M. Gronowski, Validation of Lamellar Body Counts Using Three Hematology Analyzers, *Am J Clin Pathol*, 134:420-428, 2010

18. Juan Piazze and Albana Cerekja², Lamellar bodies: platelet channel particles as predictors of respiratory distress syndrome (RDS) and of transient tachypnea of the newborn J. Perinat. Med. 39 (2011) 349–351.
19. Hiroyuki Tsuda, Yuichiro Takahashi, Shigenori Iwagaki, Yasushi Uchida, Ichiro Kawabata, Masahiro Hayakawa, Seiji Sumigama, Hiromi Hayakawa, Tomomi Kotani and Fumitaka Kikkawa, Amniotic lamellar body counts can predict the occurrence of respiratory distress syndrome as well as transient tachypnea of the newborn (TTN), J. Perinat. Med. 39 (2011) 245–250.
20. [ZhaoQ](#), [ZhaoZ](#), [LeungPinedaV](#), [WileyCL](#), [NelsonPJ](#), [GrenacheDG](#), [SaengerAK](#), [GronowskiAM](#). Predicting respiratory distress syndrome using gestational age and lamellar body count, [Clin Biochem](#). 2013 Apr 6.
21. L. Fayol, F. Arnaud, I. Mercanti, Morbilidad en el prematuro: enfermedades respiratorias, apneas, trastornos hemodinámicos, oxigenación tisular, persistencia del conducto arterioso, EMC – Pediatría, Volume E – 4-002-N-30 2012.
22. Resumen de Nacidos Demasiados Pronto: Informe de acción global sobre Nacimientos Prematuros, March of Dimes, PMNCH, Save the Children, Organización Mundial de la Salud. 2012.
23. Sonia B. Fernández Cantón, Gonzalo Gutiérrez Trujillo, Ricardo Viguri Uribe, Principales causas de mortalidad infantil en México: tendencias recientes, Bol Med Hosp Infant Mex, 69(2):144-148, 2012.

Tablas

Tabla 1 antecedentes y características de los pacientes

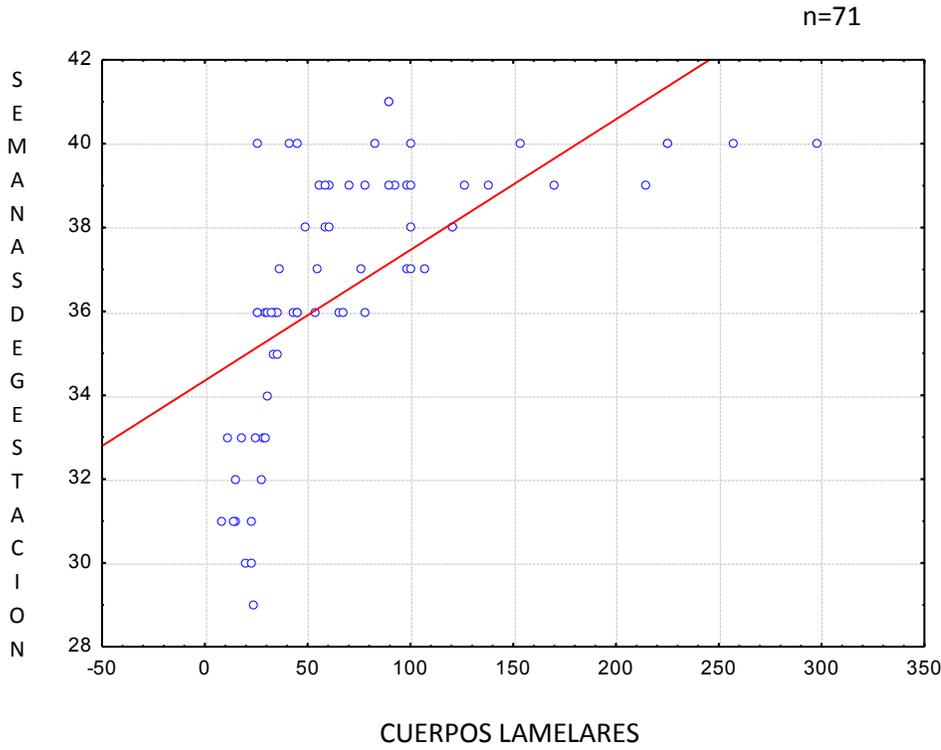
(n=71)

Semanas Gestacional	< 36.1 (n=33)		>36.6(n=38)	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Embarazo Gemelar	4	12.12 %	0	0 %
Preeclampsia	18	54.54 %	7	18.42 %
Diabetes Pregestacional	2	6.06 %	1	2.63 %
Diabetes Gestacional	0	0 %	0	0 %
Insuficiencia Renal Crónica	2	6.06 %	0	0 %
Cardiópata	2	6.06 %	0	0 %
Síndrome de Distres Respiratorio	21	63.63 %	0	0 %
Amniocentesis	7	21.21 %	0	0 %
Trans cesárea	26	78.78 %	38	100%
Media de Cuerpos Lamelares	22.4±1.895		87±8.4	

Fuente: directa

Graficas

Grafico no 1. Correlación entre semanas de gestación y Cuerpos Lamerales

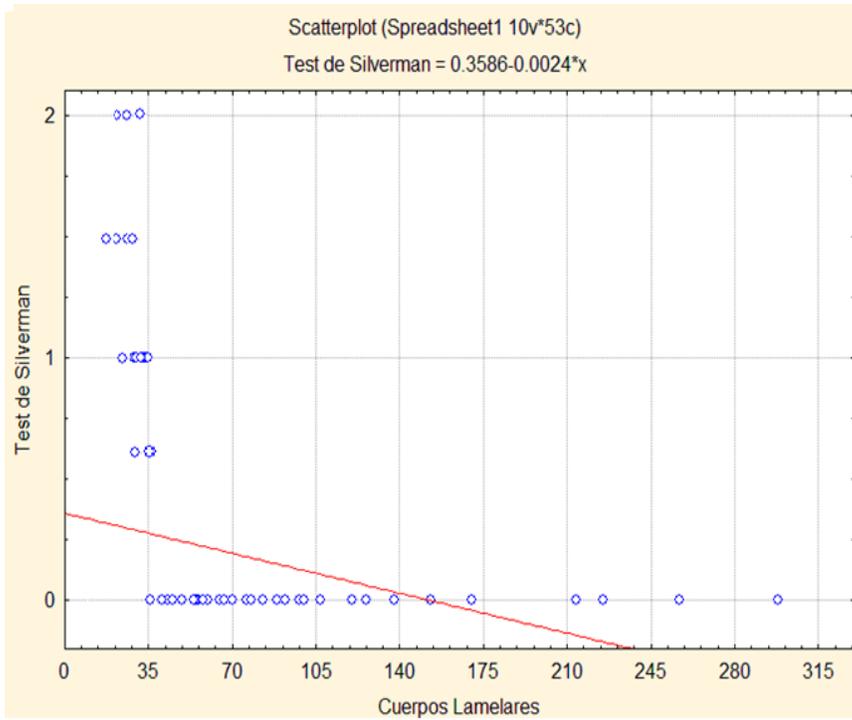


	SDG	CUERPOS LAMINARES
SDG	1.00	0.62
CUERPOS LAMINARES	0.62	1.00

Fuente: Directa

Grafico no 2. Correlación entre el Test de silverman y los cuerpos lamelares.

n=71

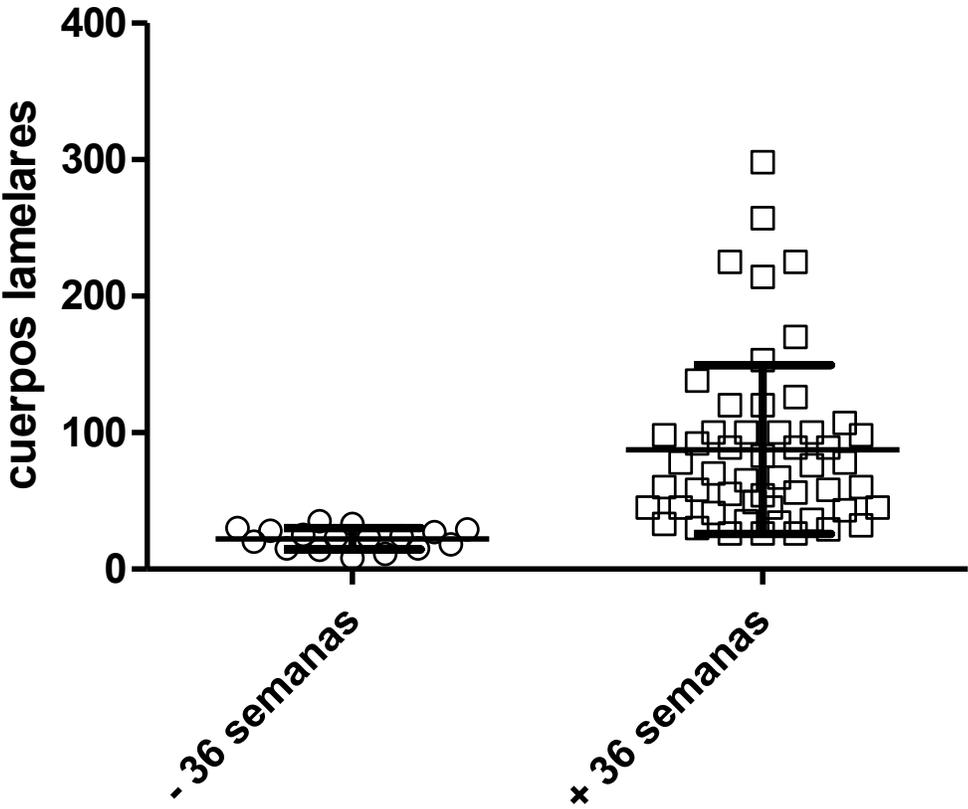


0	NEGATIVO
1	LEVE
2	MODERADO

	SILVERMAN	CUERPOS LAMELARES
SILVERMAN	1.00	-0.45
CUERPOS LAMELARES	-0.45	1.00

Fuente : Directa

Grafico no 3. Cuerpos lamelares antes de las 36 semanas de gestación y después de las 36 semanas de gestación n=71



Anexos

Anexo 1

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

No Cedula _____ FECHA _____

EDAD _____ Años

Estado Civil: Soltera Casada

FUM : _____ Regular: SI O NO Semanas de
Gestación: _____

Diagnóstico: _____

Finalización del embarazo : si no

Prueba de VIH : Si o No Resultado: Positivo o Negativo

Gpo y Rh:

Enfermedades crónicas degenerativas:

Enfermedad hipertensiva del embarazo

Diabetes Mellitus Pregestacional

Diabetes Mellitus Gestacional

Cardiopatías

IRC

Toma de la muestra:

Amniocentesis transcesárea

Silverman: (0) leve (1) moderado (2) severo

Cuerpos Lamelares: _____

HOSPITAL DE ALTA ESPECIALIDAD DE VERACRUZ

Guía Clínica

Prueba de madurez pulmonar “Conteo de Cuerpos Lamelares”

Unidad de Tocoquirúrgica, Servicio de Ginecología y Obstetricia, Hospital de Alta Especialidad de Veracruz.

Introducción:

Desde que se comenzó a investigar el síndrome de Distres Respiratorio que presentaban los neonatos pretérmino, se realizaron gran cantidad de pruebas diagnósticas, a finales de la década de los ochenta Stuart B. Dubin realiza la prueba diagnóstica mediante analizadores de Biometrías Hemáticas el conteo electrónico de cuerpos lamelares ya que su tamaño muy similar a de la plaqueta, la obtención del líquido amniótico se podrá realizar en dos formas por medio de amniocentesis y en aquellas con ruptura de membranas a través del pull vaginal.

Indicaciones para Prueba de Madurez Pulmonar :

- Documentación de la madurez pulmonar fetal en las cesáreas electivas con menos de 39 semanas de gestación para evitar el SDR neonatal.
- Embarazos de alto riesgo y en los cuales a causa de la patología maternas como Preeclampsia, Diabetes gestacional o pregestacional, Insuficiencia Renal Crónica, enfermedades inmunológicas o alguna otra patología impedirán llegar a término.
- Manejo conservador en pacientes con Ruptura Prematura de Membranas.
- Amenaza de Parto Pretérmino en donde se requiere documentar infección intramniotico así como también grado de madurez pulmonar.

El procedimiento de la amniocentesis:

Consentimiento informado (ya explicado previamente). RhD y serologías VIH, VDRL, VHB (HbsAg) previas., en caso de contar factores de riesgo en la historia clínica solicitar serología del VHC.

En infección materna por VIH, VHB i VHC se tiene que valorar riesgos y beneficios.

Contraindicaciones relativas al procedimiento:

- Mujeres seropositivas para VHB, VHC
- VIH con carga viral alta.
- Isoinmunización.
- Fiebre o infección materna activa.
- Amenaza de Parto Pretérmino
- Alteración de la coagulación materna o tratamiento anti-coagulante

La punción se practica entre las 28 y las 36 semanas.

Se selecciona ecográficamente el "pool" mayor y accesible de líquido amniótico, y la vía. En condiciones de asepsia se efectúa punción con aguja espinal del 20G y 180mm de largo, se retira el fiador y se aspiran 10 cc de líquido amniótico, manualmente en 1 jeringas de 10 o 20 ml. Todo el proceso de punción y aspiración se realiza guiado ecográficamente de forma continua.

HOSPITAL DE ALTA ESPECIALIDAD DE VERACRUZ

Guía Clínica

Prueba de madurez pulmonar “Conteo de Cuerpos Lamelares”

En gestaciones gemelares diamnióticas se obtendrán 2 muestras.

El riesgo de pérdida fetal asociada al procedimiento se sitúa entre un 0.5-1%. Existe también un cierto riesgo de RPM y de corioamnionitis (1/1000).

Las recomendaciones post-procedimiento gamaglobulina anti-D en casos de gestante RhD negativas, antes de 72 h., se mantiene en observación por 24 hrs post punción.

Se realiza una ecografía de control a la 24 hrs y 7 días post-amniocentesis, donde se realiza Perfil Biofísico y se valora en bienestar fetal.

En pacientes con Ruptura Prematura de Membranas la muestra se deberá obtener de fondo de saco posterior colocando especulo estéril, mínimo con 1 ml de líquido amniótico.

Características de la muestra:

- Se envía muestra en Jeringa de 10 o 20 ml rotulada con los datos de la paciente.
- Enviar en un lapso no mayor a 20 min posteriores a su toma.
- Muestras con líquido amniótico contaminadas con meconio no serán procesadas.
- Aquellas que presenten más de 1% de Hematocrito en las muestra de líquido amniótico su resultado no podrá ser fidedigno.

Interpretación de la muestra:

Plaquetas	Grado de madurez Pulmonar
$\geq 35,000 /\mu\text{L}$	Madurez Pulmonar
30,000 – 34 000 $/\mu\text{L}$	Madurez Pulmonar Intermedia
$< 30,000/\mu\text{L}$	Inmadurez Pulmonar

Elaborado por : Dr. Alfredo Ramírez Cárdenas /R4GYO
Dr. Avelino Guardado Sánchez /Jefe del Servicio GYO

Revisado: 26/11/2013