



CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

HOSPITAL DE LA MUJER

TESIS

**“CORRELACIÓN CLÍNICA DE LA CUANTIFICACIÓN DE CUERPOS
LAMELARES POR CITOMETRÍA DE FLUJO Y LA PRESENCIA DE SÍNDROME
DE DIFICULTAD RESPIRATORIA NEONATAL”**

PRESENTA:

Velia Edila Uresti Alvarado

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN GINECOLOGIA Y
OBSTETRICIA**

ASESORES

DRA. HILDA IMELDA VÁZQUEZ DELFÍN : ASESOR CLÍNICO

DR. FRANCISCO JAVIER SERNA VELA: ASESOR METODOLÓGICO

DR. JAVIER GÓNGORA ORTEGA: ASESOR METODOLÓGICO

Aguascalientes, Ags., Enero De 2014

NOTA DE ACEPTACIÓN



VELIA EDILA URESTI ALVARADO
ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA
P R E S E N T E

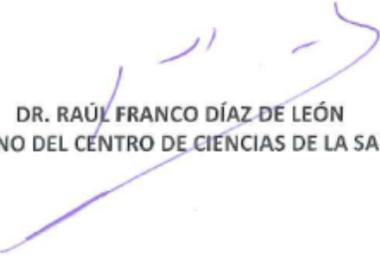
Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que su trabajo de tesis titulado:

“CORRELACIÓN CLÍNICA DE LA CUANTIFICACIÓN DE CUERPOS LAMELARES POR CITOMETRÍA DE FLUJO Y LA PRESENCIA DE SÍNDROME DE DIFICULTAD RESPIRATORIA NEONATAL”

Ha sido revisado y aprobado por su tutor y consejo académico, se autoriza continuar con los trámites de titulación para obtener el grado de:
Especialista en Ginecología y Obstetricia

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo.

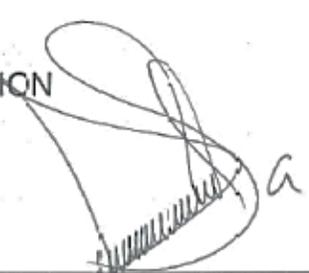
ATENTAMENTE
“SE LUMEN PROFERRE”
Aguascalientes, Ags., 31 de Enero de 2014.



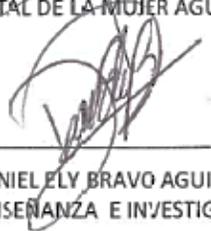
DR. RAÚL FRANCO DÍAZ DE LEÓN
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD

c.c.p. C. P. Ma. Esther Rangel Jiménez / Jefe de Departamento de Control Escolar
c.c.p. Archivo

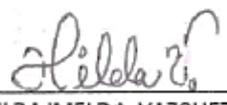
HOJA DE AUTORIZACION



DR. ARMANDO ROBLES AVILA
DIRECTOR HOSPITAL DE LA MUJER AGUASCALIENTES



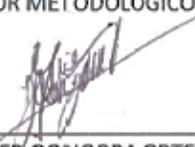
DR. DANIEL ELY BRAVO AGUIRRE
JEFE DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION



DRA. HILDA IMELDA VAZQUEZ DELFIN
ASESOR CLINICO



DR. FRANCISCO JAVIER SERNA VELA
ASESOR METODOLOGICO



DR. JAVIER GONGORA ORTEGA
ASESOR METODOLOGICO

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN

Aguascalientes, Ags, 30 de Diciembre de 2013

A quien corresponda:

El comité estatal de investigación en salud, basado en los estatutos contenidos en el manual de investigación en salud, ha tenido a bien revisar el protocolo de investigación intitulado "Correlación clínica de la cuantificación de cuerpos lamelares por citometría de flujo y la presencia de síndrome de dificultad respiratoria neonatal."

Otorgando el Dictamen de "ACEPTADO" número de registro: 2ISSEA-13/39

Investigador (s) de proyecto:
Dra. Velia Edila Urestí Alvarado.

Investigador principal (es) y Asesor (es) del proyecto:
Dra. Hilda Imelda Vázquez Delfín, Dr. Francisco Javier Serna Vela, Dr. Javier Góngora Ortega.

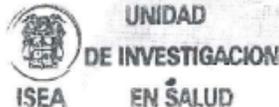
Lugar de desarrollo de la Investigación
Hospital de la Mujer Aguascalientes.

Clasificación:
Trabajo de Investigación: Tesis de Especialidad Médica

Esperando que este proyecto de investigación redunde en beneficio a nuestra población, nos ponemos a sus órdenes.

ATENTAMENTE


Dr. Javier Góngora Ortega
Secretario Técnico



C.c.p.- Archivo.



AGRADECIMIENTOS

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más.

A mis padres con todo mi amor, puesto que ellos son las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y acompañarme de la mano paso a paso, a ustedes por siempre mi corazón y mi eterno agradecimiento.

A la Dra. Hilda Vázquez, mi asesora de tesis, por su esfuerzo y dedicación; quien con sus conocimientos, experiencia, paciencia y motivación, ha logrado que pueda concluir éste proyecto con éxito y me ha apoyado a lo largo de estos años de manera incondicional; gracias por sus consejos y por hacerme sentir no solo su alumna, si no su amiga en aquellos momentos de alegría y tristeza. Al Dr. Leopoldo Serrano quien en estos cuatro años ha sido un guía en el camino del saber. De manera especial quiero agradecer a los Dres. Daniel Ely Bravo, Ezequiel Sotelo Félix, Martha Hernández, Diego Hinojosa, Fernando Carrillo y Gabriela Ortiz; quienes a lo largo de estos años, impartieron sus conocimientos como formadores de mi educación en salud, al resto de los médicos que aportaron conocimientos, consejos y su valioso tiempo para mi formación. A todos ustedes mi gratitud y respeto.

Gracias también a mis compañeros, que me apoyaron y me permitieron entrar en su vida durante estos cuatro años de convivir dentro y fuera del hospital.

De manera especial a esa persona que estuvo a mi lado, acompañándome y apoyándome en todo momento en este último paso importante de mi carrera a ti: Gracias.

DEDICATORIA

A Dios y a todos los que de verdad me quieren, en especial a mi madre y padre; quienes son lo más grande que tengo en la vida, que día a día me han guiado y acompañado como amigos y compañeros. Por su lucha y su esfuerzo en darme los medios para concluir con esta etapa de mi vida profesional, es poco lo que hago con este pequeño homenaje; siempre sus brazos se abren cuando necesito un abrazo, su corazón sabe comprender cuándo necesito un amigo, sus ojos se endurecen cuando necesito una lección, su fuerza y amor me han dirigido por la vida y me han dado las alas que necesitaba para volar. Gracias papá y mamá por darme la mejor herencia del mundo sus buenos valores y mi estudio. A mis hermanos Ramón y Ana, que son mis compañeros y cómplices en las aventuras de la vida y por sus hermosos hijos, que son la alegría de mi vida. A toda mi familia que de una u otra forma me brindan amor. Y a ti Charly por acompañarme siempre como mi ángel de la guarda.

A todos a quienes han confiado y confían en mis capacidades: Gracias.

ÍNDICE GENERAL

INDICE GENERAL	1
INDICE DE TABLAS	3
INDICE DE GRAFICOS	4
RESUMEN	5
ABSTRACT	6
INTRODUCCIÓN	7
CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO	
1.1 MARCO HISTÓRICO.	8
1.2 MARCO CIENTÍFICO.	15
1.3 MARCO NORMATIVO.	28
1.4 MARCO CONCEPTUAL.	31
CAPÍTULO 2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	33
CAPÍTULO 3. OBJETIVOS	
3.1 GENERAL.	36
3.2 ESPECIFICO.	36
CAPÍTULO 4. HIPÓTESIS	
4.1 HIPÓTESIS ALTERNA.	37
4.2 HIPÓTESIS NULA.	37
CAPÍTULO 5. MATERIAL Y MÉTODOS	
5.1 TIPO, DISEÑO Y CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO.	38
5.2 POBLACIÓN EN ESTUDIO.	38
5.3 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES.	38
CAPÍTULO 6. CRITERIOS DE SELECCIÓN	
6.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.	41



6.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.	41
6.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.	41
CAPÍTULO 7. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	
7.1 INSTRUMENTOS.	42
7.2 LOGÍSTICA.	43
7.3 PROCESO DE LA INFORMACIÓN.	43
CAPÍTULO 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44
CAPÍTULO 9. CONSIDERACIONES ÉTICAS	45
CAPÍTULO 10. RECURSOS PARA EL ESTUDIO	
10.1 HUMANOS.	46
10.2 MATERIALES.	46
10.3 FINANCIEROS.	46
CAPÍTULO 11. RESULTADOS	47
CAPÍTULO 12. DISCUSIONES	58
CONCLUSIONES	60
SUGERENCIAS	61
GLOSARIO	62
BIBLIOGRAFÍA	63
ANEXOS	65

ÍNDICE DE TABLAS

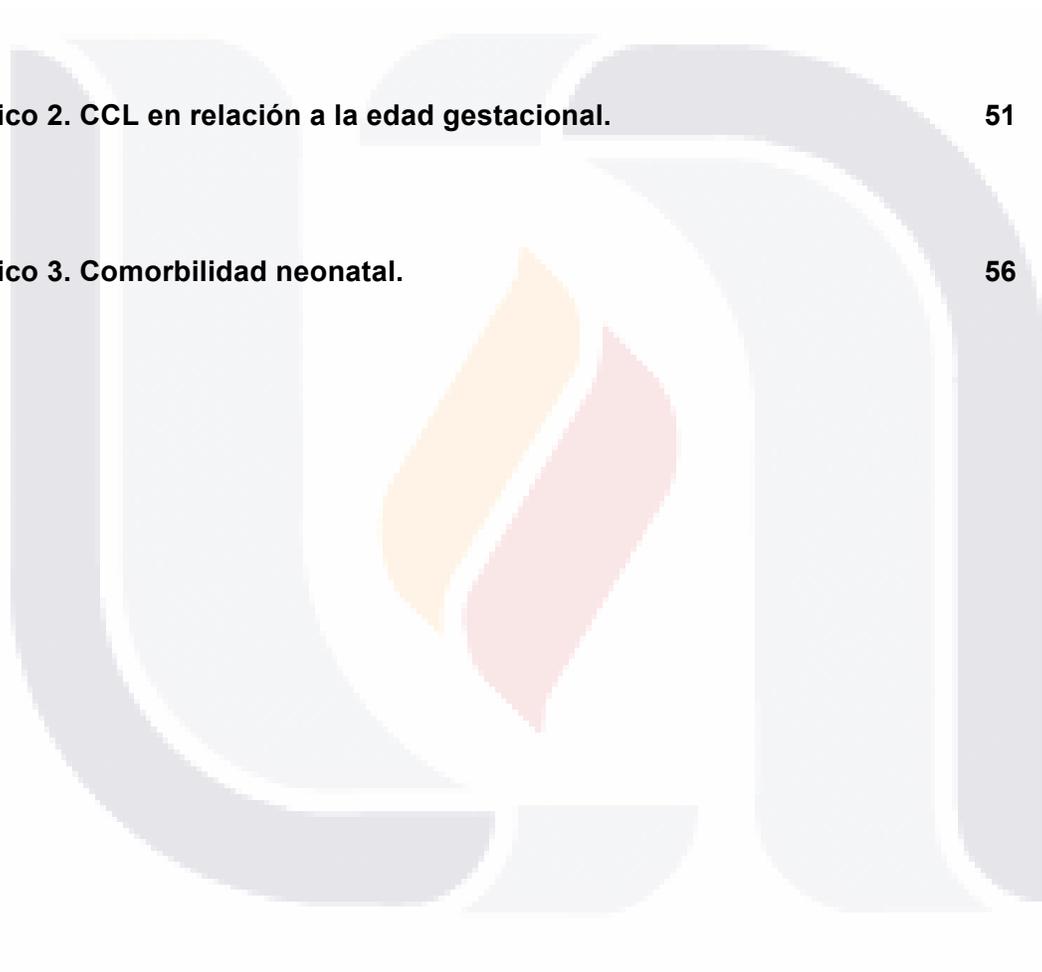
Tabla 1. Diluciones para la interfase aire líquido, “test” de Clements.	23
Tabla 2. Edad materna y paridad de la población.	47
Tabla 3. Embarazo único o gemelar.	48
Tabla 4. Comorbilidad materna.	49
Tabla 5. Resultado de conteo de cuerpos lamelares con punto de corte igual o mayor a 35 mil.	52
Tabla 6. Edad gestacional al nacimiento por Capurro y peso en el recién nacido.	53
Tabla 7. Comorbilidad neonatal que condicione síndrome de dificultad respiratoria.	54
Tabla 8. Incidencia de síndrome de dificultad respiratoria evaluada con escala de Silver Anderson modificada.	55
Tabla 9. Presencia se SDRA en relación a punto de corte de CCL igual o mayor a 35 mil.	55
Tabla 10. Correlación de la presencia de SDRA en pacientes con diabetes.	57

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Edad gestacional al momento de la amniocentesis. 50

Gráfico 2. CCL en relación a la edad gestacional. 51

Gráfico 3. Comorbilidad neonatal. 56



RESUMEN

En los embarazos de alto riesgo, es determinante la certeza de la madurez pulmonar fetal para su manejo y resolución.

Objetivos: Establecer la correlación clínica entre el conteo de cuerpos lamelares con punto de corte $\geq 35\ 000$ fl., y ausencia de síndrome de dificultad respiratoria en el recién nacido.

Material y métodos: El estudio incluyó 109 casos de muestras de líquido amniótico de embarazos únicos y múltiples con edades gestacionales entre 32 y 38 semanas (media 36,4 semanas). Se realizó a cada una de las muestras en conteo de cuerpos lamelares (CCL) por citometría de flujo. Los resultados $\geq 35\ 000$ equivalen a 70 (67.3%) de los casos analizados y los $< 35\ 000$ equivalen a 34 (32.6%). Se dividieron en dos grupos: Donde el número I con CCL $\geq 35,000$ y grupo II $< 35,000$; en el grupo I, 3 (3.8%) neonatos presentaron dificultad respiratoria secundaria y de ellos, la totalidad presentaba comorbilidad secundaria que condicionó el SDRA y, 67 (95.7%) de ellos, no presentaron dificultad respiratoria. En el grupo II, se encontró que 27 (79.4%) pacientes no presentaron dificultad respiratoria y 7 (20.6 %) si presentaron dificultad respiratoria. Para la significancia del estudio se excluyeron los 27 recién nacidos del grupo II. Se demostró una diferencia estadísticamente significativa en la incidencia de SDR entre ambos grupos con una P de .81.

Conclusiones: El CCL por citometría de flujo, con un corte de $\geq 35\ 000$, demostró un alto grado de correlación, con la ausencia de síndrome de dificultad respiratoria en el neonato. Además de ser una prueba de elevada reproducibilidad, de fácil y rápida realización y parece ser altamente efectiva.

ABSTRACT

In high-risk pregnancies, the certainty of fetal lung maturity is a determinant factor, for management and resolution.

Objectives: To establish clinical correlation between lamellar body count with a cutoff of $\geq 35\ 000$ FI, and absence of respiratory distress syndrome in the newborn.

Material and methods: The study included 109 cases of AF (amniotic fluid) samples in pregnancies of gestational ages between 32 and 38 weeks (mean 36.4 weeks). On every sample it was performed the LBC (Lamellar body count) by flow cytometry. The results of the analyzed samples of amniotic fluid for LBC with flow cytometry equal to or greater than 35 000, were equivalent to 70 of the analyzed cases. From the 109 samples collected, 67 of them did not show respiratory distress in the newborn and only 3 showed respiratory distress in the newborn with neonatal morbidity associated with ARDS. From the other 39 samples with values lower than thirty five thousand FL measured by flow cytometry, 10 patients had no respiratory distress and respiratory distress was present on 29 of them. A P value, below 0.5, indicate that the samples were not randomly selected.

Conclusions: The LBC by flow cytometry, with a cutoff of $\geq 35\ 000$, demonstrated a high degree of correlation with the absence of respiratory distress syndrome in the newborn. Besides it demonstrated to be a high reproducibility test, the minimum time for its implementation and outcome, and accessible to most laboratories.



INTRODUCCIÓN

En las pacientes con embarazo de alto riesgo, es de suma utilidad tener al alcance una prueba accesible, económica, eficaz y rápida que ayude a la detección de madurez pulmonar fetal. Debido a las diferentes complicaciones obstétricas que se presentan en este tipo de embarazos, y a la frecuente necesidad de la interrupción de la gestación antes del término; el conteo de cuerpos lamelares por citometría de flujo, es una prueba de reciente uso en los centros hospitalarios, que reúne ciertos parámetros que toda prueba de detección para la madurez pulmonar fetal debe tener; como lo es la fácil reproducibilidad y el equipo utilizado para su realización, además está disponible en la mayoría de las centros hospitalarios.

Se cuenta con suficiente información en la literatura mundial, la cual indica que ésta prueba es válida para la determinación de la maduración pulmonar fetal. Sin embargo, aún no existe un consenso mundial acerca de los puntos de corte para su debida interpretación, existiendo valores de entre 32 mil CCL y 50 mil CCL para validar la madurez pulmonar.

Ésta investigación pretende la validación del conteo de cuerpos lamelares por citometría de flujo, como prueba diagnóstica con un punto de corte de 35 mil CCL, mediante la comprobación de ausencia de síndrome de dificultad respiratoria neonatal, en aquellos productos que se demuestren por encima de este punto de corte.

CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES HISTÓRICOS.

El parto prematuro ha sido, y es, la causa más frecuente de mortalidad y morbilidad perinatal, también es responsable de la mayoría de las muertes neonatales no vinculadas con malformaciones congénitas. Las principales complicaciones asociadas con la prematurez son el síndrome de dificultad respiratoria, hemorragia interventricular, enterocolitis necrotizante, displasia broncopulmonar, persistencia del conducto arterioso, retinopatía y la sepsis. Siendo la principal causa de morbimortalidad la presencia del síndrome de dificultad respiratoria en el neonato, ocasionada por la inmadurez pulmonar fetal. (1)

A esta patología se agregan los factores asociados a la madre, dentro de los principales se encuentran la diabetes gestacional y la isoimmunización materno fetal, los cuales constituyen factores que retrasan la madurez pulmonar fetal, no relacionados a la edad gestacional. (1)

Aunque, la incidencia de la dificultad respiratoria en el recién nacido ha disminuido gracias a la inducción de maduración pulmonar prenatal con corticoides, se han usado desde el siglo pasado. Los primeros reportes del uso de esteroides se remontan a 1950, por el Dr. Blodi de la Universidad de Columbia en Nueva York, quien demostró su utilidad para promover el desarrollo pulmonar y la síntesis de surfactante en el prematuro. Más tarde se realizaron estudios controlados y se pudieron analizar los efectos de los esteroides post-natales. (1)

Así se han realizado metanálisis acerca de las ventajas y desventajas de su utilización en tres diferentes períodos de la vida: De manera muy temprana (menos de 96 horas de vida), moderadamente temprana (una a dos semanas de vida) o tardía (más de tres semanas de vida). En recién nacidos de muy bajo peso; sin embargo, es importante mencionar que los esquemas utilizados han sido muy variados e, históricamente, han llegado a utilizarse dosis demasiado altas en relación a lo que se utiliza actualmente. Los principales efectos benéficos reportados son: extubar más fácilmente y disminuir la incidencia de enfermedad



TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

pulmonar crónica. Estos resultados fueron el fundamento para la recomendación realizada en 1994 por el Royal College of Obstetricians and Gynecologists, los Institutos Nacionales de Salud y la Consensus Conference, quienes puntualizaron recomendaciones para la administración de cortico esteroides antenatales. (1) Dichas recomendaciones han evolucionado históricamente en cuanto a la dosificación de los esteroides recomendados hasta el último consenso de 2012 por el ACOG, publicado en el boletín número 41, donde establecieron únicamente como terapia efectiva de inducción de madurez pulmonar fetal a la dexametasona y la betametasona, utilizando dosis mínimas efectivas. (2)

En cuanto al manejo para la madurez pulmonar prenatal, ya están establecidas las guías de tratamiento, esquemas y su manejo; pero con ello no se ha logrado disminuir la morbimortalidad en los recién nacidos a causa de la dificultad respiratoria, siendo ésta la principal complicación. Es por ello que se han ideado nuevas técnicas que lleven al diagnóstico antenatal de la maduración pulmonar para su manejo oportuno. Se han descrito exámenes del líquido amniótico obtenido por amniocentesis, siendo los más utilizados el índice lecitina/esfingomielina (L/E) y la medición del fosfatidilglicerol (PG), con el fin de predecir el riesgo neonatal de desarrollar dificultad respiratoria. Los pioneros en el diagnóstico antenatal de la maduración pulmonar, Liggins y Howie, reportaron en 1972 por primera vez, estudios realizados prenatalmente para el diagnóstico de maduración pulmonar y su manejo, con el fin de disminuir la incidencia de síndrome de dificultad respiratoria en el recién nacido. (1)

Desde la década de los 70, el estándar de oro para el diagnóstico de maduración pulmonar fetal, ha sido la determinación de la relación L/E; no obstante, la disponibilidad de la prueba es muy limitada, incluso en medios con alta tecnología, lo que ha estimulado la búsqueda de pruebas alternativas de métodos de valoración pulmonar fetal. (2)

Entre las características que debe reunir un método de valoración de madurez pulmonar fetal se deben citar: que no presente interferencias por sangre o meconio, que sea rápido y que tenga una sensibilidad muy elevada y una especificidad alta. (4)

Los métodos de valoración pulmonar fetal, se pueden clasificar en dos categorías generales: biofísicos y bioquímicos.



I. Métodos biofísicos.

Los métodos biofísicos han sido difíciles de estandarizar y su uso en la práctica clínica es muy limitado. De todos ellos, el que más se ha utilizado es el test de Clements, propuesto en 1972. (4)

1.- Test de Clements, se describió inicialmente como la "prueba de la burbuja" (Shake test) como un método rápido para determinar la presencia de surfactantes en el líquido amniótico. La evaluación clínica del Método de Clements modificado en 1987, tiene una sensibilidad de 95 % y una especificidad de 75 %.(4)

II. Métodos bioquímicos.

Dentro de los métodos bioquímicos se incluyen: la determinación de la actividad enzimática de sustancias que intervienen en la síntesis pulmonar de fosfolípidos, la cuantificación de proteínas asociadas al surfactante y la valoración de diferentes fosfolípidos. Los métodos que han tenido utilidad clínica han sido los que valoran algún aspecto relacionado con los fosfolípidos. (5)

1.- La espectrofotometría de líquido amniótico, para medición de fosfolípidos realizada por Mendelbaun y Belitzky en 1976, tuvo el objetivo de obtener la lectura del líquido amniótico por espectrofotómetro. (4) Debido a la dificultad en el manejo de la instrumentación, el grupo de Tait modificó la técnica para permitir el uso de un instrumento común en un laboratorio clínico, un analizador TDX. El método permite determinar la cantidad relativa de fosfolípidos del surfactante en líquido amniótico. Aunque la sensibilidad y la especificidad son elevadas, tanto en la versión automatizada como en la manual, la incidencia de falsos positivos es muy alta (entre 50 y 53%). Algunos autores recomiendan esta valoración como método de screening, en un estudio secuencial de madurez pulmonar del feto. (4)

2.- La determinación de células naranja, propuesta en la misma década de los 80 por Brosen y Gordon, demostró que la cantidad en proporción de células naranja (células con lípidos) se encontraba en relación directa con una mayor edad gestacional. Reutilizada por Bishop y Carson, se encontró una frecuencia de prematurez de 80 a 90%



con menos de 2% de células naranja y 60% con 2-5% de dichas células. No se encontró prematuridad cuando el porcentaje de células naranja fue de 20% ó más. Sin embargo, la proporción de falsos negativos (pacientes cercanos al término por otros criterios con pocas células naranja), parece ser alto. (5)

3.- Relación Lecitina/Esfingomielina, actualmente denominada prueba de cuantificación de fosfolípidos. El grupo de Gluck, en 1975, fue el primero que introdujo en la práctica clínica el estudio de la madurez pulmonar fetal mediante la determinación en líquido amniótico del índice Lecitina/Esfingomielina (L/E). (5) En 1979 modificaron el método original, y mediante una cromatografía bidimensional, propusieron la valoración del «Perfil pulmonar» en el que se incluía, además de lecitina y esfingomielina, la determinación de otros fosfolípidos de origen pulmonar. Considerado como el estándar de oro para la determinación de madurez pulmonar fetal, se mide la cantidad de fosfolípidos en el líquido amniótico y, a través de ella, se puede determinar el grado de maduración pulmonar fetal, lo cual es particularmente útil para adelantar a lo que podría ser la respuesta pulmonar del neonato. Aunque; su alto costo, su difícil acceso, la complejidad de la técnica de realización y el retardo en el tiempo de obtención de resultados, lo hace inaccesible para muchos centros hospitalarios en nuestro medio, ya que no cuentan con los medios para su realización. (4)

Los resultados se expresan como índices referidos a esfingomielina, para evitar las variaciones de volumen de líquido amniótico. Es interesante destacar que la presencia de sangre o de meconio no interfiere la determinación de fosfatidilglicerol (PG). Este método tiene una sensibilidad de 100% y una especificidad de 85%. El valor predictivo negativo es de 100% y el valor predictivo positivo de 64%. (4)

Desafortunadamente, algunos investigadores han intentado modificar el procedimiento, eliminando la precipitación en frío con acetona. En este caso, la relación de 2.0 de L/E no puede ser indicativo de madurez pulmonar y una relación de 4.0 puede ser necesaria para asegurarse que existe una adecuada cantidad de surfactante pulmonar. Como ha sido repetido insistentemente por Gluck, cada laboratorio debe determinar sus propios valores de L/E basados en su propia experiencia. Cuando tal requisito no se cumple, se puede caer en el error de tener falsos positivos (desarrollo de SDR a pesar de una relación L/E que sugiere madurez). Con un apego muy estricto al método descrito por Gluck, una



relación L/E de 2.0, equivale a una posibilidad de falsos positivos de 2%. La mitad de los resultados falsos positivos ocurren en niños hijos de madres diabéticas y el otro 50% en productos severamente asfixiados con relaciones L/E en el "límite" o en aquellos fetos afectados severamente por isoimmunización materno fetal. (5)

Es por ello que la prueba de Clements, constituye el procedimiento más sencillo y más factible de realizar aún en instituciones con recursos humanos y materiales limitados. (5)

4.- Cuantificación de creatinina en líquido amniótico: Dentro de otras técnicas más recientes y con poco conocimiento sobre ellas está la prueba de la creatinina verdadera en el líquido amniótico descrita por Sanguinetti y col. en la década de los 90. Se considera un método impreciso, ya que lo evaluado es la función renal fetal que correlaciona indirectamente con el grado de madurez pulmonar fetal, con una probabilidad alta de madurez pulmonar en el feto por su capacidad de concordancia con la edad gestacional. Concretamente se cuantifica la "creatinina verdadera", gracias a la cual no se dosifican otros cromógenos que alteran el desarrollo del color, inconveniente que presentan las técnicas habituales con las que se obtienen valores más altos e imprecisos. Concentraciones iguales o mayores de 1.6 mg. de creatinina verdadera por 100 ml. de líquido amniótico, indican embarazos iguales o mayores de 37 semanas. La presencia de sangre o meconio en las muestras de líquido amniótico pueden darnos resultados erróneos. Además, en ciertas patologías maternas por ejemplo en la insuficiencia renal y las miopatías, la prueba carece de valor y sus resultados no son confiables. Las embarazadas diabéticas tienen valores de creatinina verdadera en el líquido amniótico significativamente mayores que las de la población general. Por esta razón, no es aconsejable que en esta patología se utilice como parámetro de madurez fetal. (5)

5.- Cuantificación de cuerpos lamelares por citometría de flujo: Una de las alternativas más recientes para el diagnóstico de madurez pulmonar fetal, es el recuento de cuerpos lamelares en el líquido amniótico.

Ésta es una prueba sencilla, ampliamente disponible y tiene bajo costo, en comparación con la determinación de la relación Lecitina/Esfingomielina, aún no se ha logrado un consenso acerca de los criterios de interpretación y ha sido poco evaluada sistemáticamente. (1)



Hacia la década de los noventa, en 1989, Dubin describió un método para cuantificar la densidad numérica de los cuerpos lamelares (CL o CCL) a través del uso de contadores hematológicos comerciales, aunque estos reportes no enfatizan la habilidad del CCL para predecir la evolución clínica comparada con las metodologías ya establecidas. La prueba se basa en que se registran los datos del CCL en el canal correspondiente a las plaquetas para un tamaño de partícula mayor o igual a 1.7 fl., porque estos conteos correlacionan mejor con los test estándar de maduración pulmonar y porque la técnica es lineal sólo para partículas de ése tamaño. (6)

Ésta técnica se basa en la medición de cuerpos lamelares, mediante la obtención de líquido amniótico extraído por amniocentesis. Al ser del tamaño de una plaqueta, permiten que estas moléculas sean contadas rápidamente, utilizando el canal de plaquetas de los analizadores sanguíneos comerciales. Diversos autores en los años 90, han utilizado esta técnica para predecir la madurez pulmonar demostrando una buena correlación clínica. (6)

Ante el avance de las nuevas metodologías, para determinar diferentes componentes en cualquier líquido biológico, sujetas a controles analíticamente cualitativos y cuantitativos en el conteo de cuerpos lamelares (CCL) en líquido amniótico (LA), como prueba rápida de predictor de madurez pulmonar fetal, tiene múltiples ventajas: alta confiabilidad, fácil estandarización del proceso y puede efectuarse sobre un pequeño volumen de muestra. Además el test independiza el resultado de la manualidad del operador y hace desaparecer la subjetividad de la interpretación por parte del mismo. (6)

Todos estos métodos diagnósticos ya establecidos, y los que están en estudio, han servido para la detección de la inmadurez fetal antenatal y para ayudar a su tratamiento y manejo. Más de dos décadas han transcurrido desde la publicación de Liggins y Howie y, en éste período, más de 3,500 mujeres han sido investigadas en 15 estudios similares, tratando de responder una pregunta, respondida ya en 1972 por Clements. (5)

Por todo lo anterior, uno de los avances más importantes en el manejo perinatal de los embarazos de alto riesgo, ha sido el descubrimiento y disponibilidad de pruebas válidas y confiables, con las cuales indagar el grado de madurez pulmonar del feto humano *in*



útero. La habilidad para predecir la madurez pulmonar fetal de una forma rápida, de bajo costo y con precisión, es un auxiliar de suma utilidad en el manejo de embarazos de alto riesgo; desde la resolución del mismo o la administración de glucocorticoides para la madurez pulmonar; son opciones terapéuticas. También resulta ventajoso para determinar el tiempo de resolución cuando las fechas son inciertas. La importancia reside en disminuir la incidencia de dificultad respiratoria aguda en el recién nacido, para el conteo de cuerpos lamelares una sensibilidad de 100% y una especificidad de 50%. (6) (17)



1.2 MARCO CIENTÍFICO

Cada año se producen alrededor de 13 millones de nacimientos prematuros en el mundo. La mayoría de estos se presenta en países emergentes. En Estados Unidos ocurre en 11%, en Europa varía entre 5 y 7%. En México, el Instituto Nacional de Perinatología informa 19.7% de nacimientos prematuros. Los nacimientos pretérmino representan las tres cuartas partes de las muertes neonatales no asociadas a malformaciones congénitas. Sin embargo, la comorbilidad asociada a éste, como el síndrome de dificultad respiratoria, es responsable de 75% de las muertes neonatales, según la OMS. (1)

El Síndrome de Dificultad Respiratoria Aguda (SDRA), sigue siendo una de las causas más comunes de morbilidad neonatal, debido a la inmadurez pulmonar. Los métodos de valoración para evaluar la maduración pulmonar fetal juegan un importante papel para establecer las estrategias obstétricas a seguir. El manejo y pronóstico perinatal de los embarazos de alto riesgo, se basa principalmente en la estimación certera de la madurez pulmonar fetal. Es por eso que se realiza el análisis del líquido amniótico (LA) con pruebas de medición de madurez pulmonar biofísicas y bioquímicas. La capacidad individual de cada una de estas técnicas, posee una determinada sensibilidad, la cual aumenta efectuándolas todas en paralelo. (7)

La eficacia de las pruebas en el líquido amniótico para predecir madurez pulmonar, varía según la edad gestacional. Valores de índice L/E 2, entre las 25 y 31 semanas de gestación, se correlacionarían hasta con 40% de probabilidad de desarrollar síndrome de dificultad respiratoria; entre las 32 y 35 semanas con 16% de riesgo y; para gestaciones de 36 semanas o más, la probabilidad sería del orden de 5%; principalmente cuando hay comorbilidad materna como diabetes gestacional y comorbilidad fetal, que conlleven a la presencia de síndrome de dificultad respiratoria en el recién nacido. (5)

Dentro de las pruebas que se realizan para la valoración de la maduración pulmonar fetal en líquido amniótico, insumen un tiempo estimado entre 10 minutos y 4 horas y un costo elevado.(4)



El síndrome de dificultad respiratoria neonatal se presenta en 75% de los recién nacidos con inmadurez pulmonar. Se hará referencia al desarrollo pulmonar y a las etapas que incluyen la formación y desarrollo de los órganos principales de la respiración en el feto. (1)

El desarrollo pulmonar fetal, desde el punto de vista morfológico, está dividido en tres etapas basado en las características descriptivas de este proceso.

1.- La etapa inicial, es la etapa pseudo glandular, se presenta entre la semana 8 y la 16, se caracteriza por la división progresiva de los bronquiolos terminales hasta completar entre 12 y 23 divisiones de la vía aérea, lo cual finaliza aproximadamente al término de la semana 16. Las estructuras más periféricas en esta etapa del desarrollo pulmonar, son los bronquiolos terminales, que formarán los futuros bronquiolos respiratorios. A las 16 semanas, los diferentes tipos celulares del epitelio respiratorio ya tienen una diferenciación rudimentaria, y al término de esta etapa; las arterias, las venas y la vía aérea, están dispuestas en un patrón relativamente similar al del adulto. Es en esta etapa donde comienza la formación de los fosfolípidos necesarios para comenzar la primera vía de la madurez pulmonar. (8)

2.- La etapa canalicular, comprendida entre la semana 17 y la 27 de gestación, se denomina de esta manera por la aparición de canales vasculares que se aproximan a los espacios aéreos en formación. Este período comprende el paso de un pulmón pre viable a uno potencialmente viable, ya que en ella tiene lugar la diferenciación del pulmón como un órgano capaz (potencialmente) de intercambiar gases. Para esta transformación suceden tres eventos esenciales para la supervivencia extrauterina del feto:

- a) Aparición de las unidades acinares.
- b) Desarrollo de la barrera alveolocapilar.
- c) Comienzo de la síntesis de surfactante.

La unidad acinar o acino, es el grupo de los bronquiolos respiratorios y alvéolos que se originan de un bronquiolo terminal. Las membranas basales del epitelio respiratorio y vascular, se fusionan y permite el intercambio gaseoso en la vida extrauterina.



La superficie de la barrera alveolo-capilar aumenta de forma exponencial a lo largo de la etapa canalicular, adelgazándose progresivamente. De la semana 20 a la 22 de gestación, las células que van a dar origen a los neumocitos tipo I y II, ya pueden ser reconocidas. Los neumocitos tipo II mantienen su forma cuboidea, apareciendo en su citoplasma glucógeno y cuerpos lamelares que indican el comienzo de la producción de surfactante por el pulmón fetal. (8)

3.- La etapa sacular, comprende el período desde las 28 semanas hasta el término de la gestación. Los cambios que ocurren en este período son la disminución del espesor del intersticio, aparición de los tabiques en los sáculos terminales y el adelgazamiento del epitelio. Se describe en ella la presencia de cuerpos lamelares más grandes y en mayor cantidad, el surfactante pulmonar se encuentra presente ya en el líquido amniótico. (8) Éste entra en comunicación directa con el líquido amniótico, siendo expulsado de los pulmones al mismo tiempo durante los movimientos respiratorios del feto. Por lo tanto, el líquido amniótico es una fuente adicional de surfactante, que puede ser purificado por métodos apropiados y así, el análisis del líquido amniótico, es usado como un test para conocer la maduración pulmonar del feto (10).

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA PULMONAR.

El pulmón, es el encargado de llevar a cabo la función respiratoria en los organismos. Histológicamente están formados por tejido respiratorio esponjoso, en el cual se producen los intercambios gaseosos entre la sangre y el aire, y un sistema ramificado de tubos aéreos denominados bronquiolos y bronquios. Es a través de ellos que "entra y sale" el aire de las bolsas aéreas del tejido respiratorio esponjoso. La unidad respiratoria incluye un bronquiolo respiratorio, conductos alveolares, atrios o vestíbulos y sacos alveolares o alvéolos. (8)

Los alvéolos se encuentran en una cantidad aproximada de 250 millones en los pulmones del ser humano, con diámetro medio de 0,1 mm. por alveolo. Están recubiertos de una capa continua de epitelio, suficientemente fina como para permitir el intercambio gaseoso y así la respiración. Los gases alveolares se hallan en estrecha proximidad con la sangre de los capilares, de forma tal, que el intercambio gaseoso entre el aire alveolar y la sangre pulmonar, se produce a través de las membranas de todas las porciones terminales de los pulmones, llamada la barrera aire – sangre. Estas membranas en conjunto se denominan



membranas respiratorias o membrana pulmonar. El análisis estructural de la membrana respiratoria muestra las siguientes capas: 1) una capa monomolecular de sustancia tensoactiva, lipoproteína que se difunde sobre la superficie de líquido que reviste el alveolo, el surfactante pulmonar; 2) una capa muy delgada de líquido que recubre el alveolo; 3) el epitelio alveolar formado de células epiteliales muy delgadas; 4) un espacio intersticial entre el epitelio alveolar y la membrana capilar; 5) una membrana basal capilar y 6) la membrana endotelial capilar. A pesar del número elevado de capas, el espesor global de la membrana respiratoria oscila entre 0.1-1 μm . (8)

El epitelio alveolar, está compuesto de dos tipos de células vinculadas por uniones herméticas, que recubren de forma continua el saco alveolar. Las más importantes son las planas y reciben el nombre de neumocitos de tipo I. Entre ellas se intercalan otras células secretoras de mayor tamaño, menos numerosas, conocidas como neumocitos de tipo II. Las células planas son las encargadas de permitir la difusión de gases a través de su citoplasma, en tanto que los neumocitos de tipo II tienen una función esencialmente secretora, por lo que su actividad metabólica es más intensa que en las células de tipo I. Cuando los neumocitos de tipo I son dañados por sustancias citotóxicas o por altas presiones de oxígeno, se forman nuevas células de tipo I a partir de los neumocitos de tipo II (8). Los neumocitos tipo II constituyen entre 10 y 15 % de las células pulmonares. Son células redondeadas y bastante grandes, ricas en retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias y peroxisomas. Su citoplasma tiene un alto contenido en corpúsculos lamelares, que son un reservorio intracelular de surfactante. Estos orgánulos son estructuras hemisféricas de material membranoso, dispuesto en torno a una matriz amorfa, situada en posición excéntrica. El material almacenado está formado casi exclusivamente por fosfolípidos, cuya composición es semejante al surfactante pulmonar y difiere de otras fracciones subcelulares en su composición. (8)

CUERPOS LAMELARES.

Diversos autores, como Dubin, han estudiado la composición en fosfolípidos de los cuerpos lamelares procedentes de diversas especies. En todos los casos, se observa la predominancia de la fosfatidilcolina sobre el resto de los fosfolípidos y un alto contenido de fosfatidilglicerol, considerado como marcador químico de esta fracción subcelular, su porcentaje es algo inferior al que se encuentra en el surfactante pulmonar (8). En los cuerpos lamelares se ha detectado numerosas enzimas implicadas en el metabolismo del



surfactante pulmonar. Por esta razón, se considera que la contribución de estos orgánulos al proceso de biosíntesis de los componentes del surfactante debe ser muy escasa (8).

Los cuerpos lamelares (CL) aparecen en el pulmón en las fases finales de la gestación, coincidiendo con el aumento en la síntesis de fosfolípidos. En la síntesis de estos lípidos, participan el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi, siendo los cuerpos lamelares, el reservorio intracelular del surfactante donde se almacena este material hasta que es excretado al espacio alveolar extracelular (8).

Los cuerpos lamelares, son estructuras dispuestas concéntricamente producidas por los neumocitos tipo II. Se los describe como una estructura de mielina tubular, cuyo contenido en fosfolípidos cambia con la maduración del pulmón fetal. Consisten casi enteramente de fosfolípidos y representan la forma de almacenamiento del surfactante pulmonar.(8)

A medida que el pulmón fetal madura, aumenta la producción de los CL, que son llevados al LA mediante la respiración fetal y posterior exudación. Estos gránulos de almacenamiento de surfactante tienen un tamaño de entre 1 y 5 micrones de diámetro⁵ y un tamaño (volumen) de partícula de 1.7 a 7.3 fl⁶; contienen fosfolípidos, colesterol y varias proteínas específicas del surfactante⁷. Los CL aparecen en el citoplasma del neumocito fetal entre las 20 y 24 semanas⁸ de gestación y en el LA a partir de la semana 26.(8)

En el estudio de la composición química del surfactante en el líquido amniótico, realizado en diferentes especies, los fosfolípidos del surfactante, resultó que la fosfatidilcolina, es el fosfolípido más abundante, ya que representa 78 a 91% de los fosfolípidos totales. El fosfatidilglicerol es el segundo fosfolípido más abundante (5 a 6% del total), y es característico de éste líquido biológico, y de los cuerpos lamelares, donde llega a representar hasta 13% de los fosfolípidos, apareciendo también en otros tejidos animales (pero siempre en proporciones traza). Éste fosfolípido aumenta la fluidez de las moléculas de dipalmitoilfosfatidilcolina, por lo que su presencia es crítica para la estabilidad alveolar. De hecho, el fosfatidilglicerol, se encuentra ausente en pulmones inmaduros y estudios realizados por Hallman y Epstein en 1980 y Bleasdale y Johnston en 1982, hacen hincapié en la relación existente entre la razón fosfatidilglicerol/fosfatidilinositol en la maduración fetal del pulmón y ciertas enfermedades de carácter respiratorio. Cuando el



pulmón fetal está maduro, la razón se incrementa, mientras que en estados de inmadurez desciende.(5)

El resto de los fosfolípidos (fosfatidiletanolamina, esfingomielina, fosfatidilinositol, fosfatidilserina y lisoderivados) están escasamente representados en este líquido biológico, aunque tanto la fosfatidiletanolamina como la esfingomielina, son fosfolípidos cuantitativamente importantes en el tejido pulmonar. Estudios recientes indican que el fosfatidilinositol puede reemplazar al fosfatidilglicerol sin afectar de modo importante a las propiedades fisiológicas y fisicoquímicas del surfactante (6).

Existen muchas pruebas para diagnosticar la edad del feto, algunas de las cuales son realizadas en nuestro medio y otras, tiene la perspectiva de poder hacerse a corto plazo en la medida de que dispongamos de algunos recursos materiales y económicos para practicarlas. (4)

PRUEBAS DE MADUREZ PULMONAR FETAL.

En este orden se describen las técnicas que a lo largo de sus inicios han sido utilizadas como métodos diagnósticos para la determinación de madurez pulmonar prenatal. También se describen las ventajas y desventajas de cada uno, y el por qué se prefiere la realización de una sobre la otra. Así como las nuevas técnicas que se han utilizado como pruebas rápidas y de fácil acceso para la mayoría de los centros hospitalarios. No existe hasta el momento, ninguna prueba que pueda dar una información exacta de la edad gestacional del feto. Todas, por muy sofisticadas que parezcan, tienen un rango de dispersión que hace que sus resultados sean relativamente confiables. (5)

Cuando se estudia un parámetro particular de madurez fetal, se asume que el crecimiento y desarrollo del resto de órganos fetales, siguen un progreso parejo y paralelo. Por ejemplo, cuando se dosifica el coeficiente Lecitina-Esfingomielina (L/E), concretamente se están cuantificando sustancias identificadas como fosfolípidos que actúan como surfactantes pulmonares. Si este coeficiente es mayor de 2, se concluye que el feto está "maduro", no obstante, lo más lógico sería afirmar que el pulmón fetal tiene una cantidad de surfactante que corresponde a un pulmón "maduro".

- I. Espectrofotometría del Líquido Amniótico.
- II. Porcentaje de células naranja en el líquido amniótico.
- III. Dosificación de fosfolípidos en el líquido amniótico:
 1. Test de Clements (Skak test, prueba de la burbuja)
 2. Coeficiente Lecitina/Esfingomielina (L/E).
 3. Concentración de fosfatidilglicerol.
- IV. Concentración de Creatinina en el líquido amniótico.
- V. Cuantificación de cuerpos lamelares en líquido amniótico por citometría de flujo.

I. ESPECTROFOTOMETRÍA DEL LÍQUIDO AMNIÓTICO.

El líquido amniótico obtenido por punción amniótica, es recogido en tubos protegidos de la luz con papel plomado. Se centrifuga de inmediato a 3000 r.p.m. durante 30 minutos. Procediendo de esta manera se evita la descomposición de los pigmentos bilibirrubinoides por la luz solar o artificial, y también la lisis de los pocos glóbulos rojos que quedan siempre en la aguja de punción. (4)

Para la lectura del líquido amniótico no debe existir turbidez ni sobrenadantes, en caso contrario, se centrifuga nuevamente. La medida de los valores de la Densidad Óptica (D.O.) se efectúa en forma escalonada en el espectrofotómetro, recorriendo el espectro de la luz visible, entre 700 a 320 milimicras de longitud de onda.

Con los valores de las Densidades Ópticas leídas cada 20 milimicras, se confecciona una gráfica en papel semilogarítmico. La línea de base ideal, la que tendría el líquido amniótico corresponde a la trazada entre 525 y 375 mμ de longitud de onda. La diferencia de Densidad Óptica (A. DO) a 450 mμ se obtiene por simple diferencia entre el punto leído a 450 mμ y el valor correspondiente de la línea de base. (5)

Con el objeto de simplificar la técnica, se hacen las lecturas de D.O. a 375, 450 y 525 mμ, construyéndose la curva con éstas tres lecturas y trazando una tangente que va de las 375 a los 525 mμ y luego una línea que sale de la lectura de D.O. encontrada a 450 hasta intersección con la tangente. Dicha línea corresponderá a la D.O. (5)

Valores de 0.015 de D.O. o menores, corresponden con alta probabilidad a gestaciones de más de 36 semanas de embarazo. Pero valores mayores de 0.05 no descartan que el feto esté maduro y requieren otros estudios complementarios.

Lo delicado de esta prueba, es que el líquido amniótico debe permanecer en refrigeración y protegido de la luz, no debe existir contaminación meconial o sangre hemolizada, de lo contrario no tiene sentido efectuar la técnica. (4)

II. PORCENTAJE DE CÉLULAS CON LÍPIDOS.

Se hace una agitación suave del líquido amniótico contenido en la jeringa o en un frasco, se coloca una gota de líquido amniótico en un porta-objetos mezclándola con una gota de sulfato de azul de Nilo a 0.1%. Se entibia un momento la preparación al calor de una lámpara y se coloca un cubre-objetos. Se examina en fresco de inmediato al microscopio. Es fundamental que el examen sea lo más próximo posible a la extracción del líquido amniótico para evitar la destrucción de las células sebáceas que son muy lábiles.

El conteo se efectúa recorriendo el preparado por campos en forma similar o como rutinariamente se obtiene la fórmula leucocitaria relativa. Se anota por separado el número de células naranja en relación al total de células contadas, utilizando la fórmula: porcentaje de células con lípidos y número de células naranja por 100, es el número total de células. El porcentaje de células con lípidos iguales o mayor que 10%, corresponden con alta probabilidad a embarazos de más de 36 semanas. Dado que pueden presentarse porcentajes inferiores a 10%, y 0% en embarazos de término, se considera que valores menores de 10%, no afirman que el feto esté inmaduro y requieren análisis complementarios.(5)

La prueba puede efectuarse aun cuando se contamine el líquido amniótico con meconio y/o sangre. Para iguales edades gestacionales, no existen diferencias entre la población normal y las gestaciones patológicas.

1. *DOSIFICACIÓN DE FOSFOLÍPIDOS EN EL LÍQUIDO AMNIÓTICO. "TEST" DE CLEMENTS.*

Se realiza a los 15 minutos de la agitación. La interfase aire líquido de los tubos debe observarse contra un fondo negro. Se realiza con las siguientes diluciones:

Tabla 1. Diluciones para la interfase aire líquido, "test" de Clements.

	TUBO 1	TUBO 2	TUBO 3	TUBO 4	TUBO 5
LÍQUIDO AMNIÓTICO	1 ml	.75 ml	.50 ml	.25 ml	.20 ml
ETANOL AL 95%	1ml	1ml	1ml	1ml	1ml
SUERO FISIOLÓGICO	0ml	.25 ml	.50 ml	.75 ml	.80 ml
DILUCIÓN	1/1	1/2	1/4	1/7	1/8

Se valora cada tubo como positivo, si en el menisco existe un anillo continuo de burbuja, y como negativo si no existen burbujas o éstos no forman un anillo completo. Si los 5 tubos son positivos, el test es positivo; 4 tubos son positivos y uno negativo, el test es intermedio; 3 tubos son positivos y 2 negativos, el test es dudoso; y más de 3 negativos, el test es negativo. (5)

Precauciones útiles para realizar la técnica:

No realizar el test si el líquido amniótico tiene meconio, porque puede dar falsos positivos. Cuando el líquido amniótico tiene sangre, centrifugarlo a 500 r.p.m. durante 5 minutos; si el hematocrito del sobrenadante es inferior a 3%, puede hacerse el test. No conviene efectuarlo si hay contaminación vaginal. Debe realizarse el test de inmediato a la extracción del líquido amniótico, de no ser así, puede guardarse en refrigeración a 5°C, hasta 30 minutos ó de 0 a 20°C hasta 24 horas.(5).

2. RELACIÓN LECITINA ESFINGOMIELINA EN EL LÍQUIDO AMNIÓTICO.

Antes de la semana 30 a 32 de gestación, la lecitina se encuentra presente en bajas concentraciones en el líquido amniótico. Dichos valores son menores que los de esfingomielina. A las 32 semanas, la concentración de éstos fosfolípidos se igualan, produciéndose posteriormente un gradual incremento de la lecitina, el cual se hace abrupto a las 35 semanas, momento en el que se alcanza la madurez pulmonar.(4)

La dosificación del coeficiente Lecitina/Esfingomielina (L/E), es una de las pruebas de madurez fetal más confiables en la actualidad. Concretamente es una prueba que mide la cantidad de fosfolípidos en el líquido amniótico y, a través de ella, se puede determinar el grado de maduración pulmonar fetal, lo cual es particularmente útil para adelantar lo que podría ser la respuesta pulmonar del neonato; en el caso que por alguna razón obstétrica o médica, se decidiera interrumpir un embarazo. Es una medida de interrelación de dos fosfolípidos producidos por el pulmón fetal y volcado en el líquido amniótico. (4)

El uso de la relación L/E, fue llevado a cabo empíricamente mediante cromatografía en capa delgada, lo que demostró que la lecitina y la esfingomielina se separan, pero quedan próximas. La determinación de la L/E descrita por Gluck, incluye una precipitación en frío con acetona del líquido amniótico, antes de la cromatografía. La lecitina no saturada es soluble en "acetona fría", mientras que la lecitina disaturada no tiene esta propiedad. Esta última tiene mayor actividad de superficie y representa en cantidad de "madurez" de 50 a 70% de la lecitina presente. Con ésta técnica, un valor de 2.0 de L/E indica madurez fetal pulmonar. (5)

La madurez funcional del sistema surfactante ocurre entre la 33 y la 37 semana de gestación en embarazadas "normales", siendo el promedio de 35 semanas. Existe relación de L/E antes de la semana 33 (maduración acelerada); en condiciones asociadas con insuficiencia placentaria, preeclampsia, hipertensión crónica, hemoglobinopatías y diabetes mellitus con severa enfermedad vascular (clase F y R, y algunos casos de clase D). Además una prolongada ruptura prematura de las membranas, especialmente si tiene más de 72 horas de duración, pareciera acelerar la maduración. Por el contrario, la maduración del surfactante puede estar retardada (por debajo de las 37 semanas), en algunas diabéticas, particularmente las de las clases A, B y C y algunos fetos con eritroblastosis. Por otra parte, en pacientes diabéticas puede producirse el SDR a pesar de

relaciones que indican madurez. Las contaminaciones del líquido amniótico con sangre o meconio, pueden alterar la relación L/E. Tanto la sangre materna como la fetal tienen una relación L/E de 1.31 a 1.46, de modo que su adición al líquido amniótico tienden a disminuir las relaciones altas y a elevar las bajas. El agregado de meconio produce una disminución de la relación L/E. (5)

3. DETERMINACIÓN DE FOSFATIDILGLICEROL.

Recientes estudios del desarrollo perinatal pulmonar de la rata y del hombre, han revelado que, simultáneamente con la lecitina, el surfactante pulmonar contiene otros fosfolípidos "menores" identificados como fosfatidilglicerol (PG) y fosfatidilinositol. Si bien es cierto que la función del PG no está clara, aún pareciera que interviene en mejorar la función del surfactante pulmonar estabilizando el alveolo. (5)

En algunas publicaciones se ha establecido que la presencia de PG en el líquido amniótico, indica que la maduración pulmonar ha sido alcanzada y que el recién nacido no desarrollará síndrome de dificultad respiratoria. (5)

Algunas investigaciones demuestran que la ausencia de PG en el líquido amniótico, está asociada con una prueba de Clements negativa. Sin embargo, la situación inversa no ha sido observada. No obstante, la presencia de PG en el líquido amniótico, es un buen indicador de maduración pulmonar fetal. Sin embargo, su ausencia no demuestra lo contrario. (5)

Por lo anterior, se recomienda que al obtener una prueba de Clements negativa, se proceda a las determinaciones del coeficiente L/E y del PG, con el objeto de obtener un diagnóstico más confiable de la madurez pulmonar fetal. (5)

III. CREATININA VERDADERA EN EL LÍQUIDO AMNIÓTICO.

Concentraciones iguales, o mayores de 1.6 mg. de creatinina verdadera por 100 ml de líquido amniótico, indican embarazos iguales o mayores de 37 semanas. La presencia de sangre o meconio en las muestras de líquido amniótico, pueden darnos resultados erróneos. Además, en ciertas patologías maternas, por ejemplo en la insuficiencia renal y las miopatías, la prueba carece de valor y sus resultados no son confiables. Las

embarazadas diabéticas tienen valores de creatinina verdadera en el líquido amniótico significativamente mayores que las de la población general. Por esta razón, no es aconsejable que en esta patología se utilice como parámetro de madurez fetal.(5)

IV. CUANTIFICACIÓN DE CUERPOS LAMELARES POR CITOMETRÍA DE FLUJO.

El recuento de los cuerpos lamelares es un método rápido para la determinación madurez fetal del pulmón. Esta predicción es importante en muchas situaciones obstétricas; tales como trabajo de parto prematuro, ruptura prematura de membranas, manejo de eclampsia, sufrimiento fetal y término electivo de embarazo. Por la evaluación del número y el tamaño de distribución de los cuerpos lamelares en el fluido amniótico, se puede predecir la madurez fetal del pulmón, mediante el contador automático de células tipo Coulter. La mayoría de los instrumentos de hematología, contadores electrónicos de células, tienen la habilidad de contar cuerpos lamelares en la misma apertura de las plaquetas. Las muestras de líquido amniótico se mezclan bien, se revisa que no tengan moco y se colocan en el contador electrónico de células de hematología. El recuento aparece en el canal de plaquetas que corresponden a los cuerpos lamelares presentes en el líquido amniótico, la mayoría de los canales de plaquetas miden todas las partículas que tienen un volumen entre 2 y 20 fl., la mayoría de los cuerpos lamelares caen dentro de éste rango. Este estudio determina directamente el número de partículas que están en la superficie del líquido. (10)

La técnica de cuantificación de cuerpos lamelares en líquido amniótico (CCL), se realiza con la colocación de la muestra de LA en un tubo estéril (obtenido por amniocentesis), con 3 mL de muestra es suficiente para el estudio. Debe estar libre de contaminantes como meconio, sangre y cabello fetal, que pueden interferir con el valor obtenido. Se introduce la muestra sin centrifugación al equipo de contador de células tipo Coulter, en donde es medido a través del canal de contador plaquetario.(10)

Este método se basa en el hecho de que, los cuerpos lamelares pueden contarse debido a su tamaño (1.3 a 1.7 fl.); mediante la determinación del pulso eléctrico generado en el cambio de resistencia que ellos producen, con el empleado para los contadores de células tipo Coulter. El recuento de 32 000 partículas por microlitro representa madurez pulmonar fetal. El Sistema de Hematología ADVIA (120) en Nueva York, dio ese punto de cohorte



para todos los contadores de células que cuenten con el equipo tipo Coulter y puntualizó, que es necesario establecer para cada equipo celular, un punto de cohorte en correlación a la clínica. (11)

Respecto al punto de cohorte para la determinación de madurez pulmonar fetal, un consenso en febrero de 2000, dice que la concentración de cuerpos lamelares, que representa el almacenamiento del surfactante, se pueden contar en los canales de muchos contadores electrónicos de células. El conteo de cuerpos lamelares, ha sido usado por más de una década y se puede comparar con análisis tradicionales de fosfolípidos para evaluar madurez pulmonar. Se llegó a la conclusión de no centrifugar las muestras y que, los valores sugestivos de madurez por un conteo de cuerpos lamelares, es de 35,000 microl e inmadurez por un conteo de 15,000 microl. Aunque hay otros estudios donde se han visto valores de conteo para madurez pulmonar de más de 30,000 microl, parece ser por la centrifugación de las muestras antes del conteo, que puede variar en su resultado.(6)

TRATAMIENTO DE INMADUREZ PULMONAR.

Posterior a la realización de cualquier prueba que valore la madurez pulmonar fetal, el médico gineco obstetra, decidirá y normará la conducta a seguir, en base al mayor beneficio materno – fetal. Si las condiciones permiten, y hay inmadurez fetal demostrada, se indicaran manejos ya establecidos desde 2012. Entre los regímenes con corticoesteroides que demostraron ser efectivos, se incluyen: dos dosis de 12 mg. de betametasona administradas con un intervalo de 24 horas por vía intramuscular; o cuatro dosis de 6 mg. de dexametasona administradas cada 12 horas por vía intramuscular. Se excluyeron los estudios en los que se usó metilprednisolona, porque se demostró que la transferencia placentaria de este corticoesteroide está alterada.(7)

1.3 MARCO NORMATIVO

Según lo referente a la Norma Oficial Mexicana (NOM-034-SSA2-2002), “para la prevención y control de los defectos al nacimiento”; se dispone que, los defectos al nacimiento, son un conjunto de patologías que alteran la estructura anatómica, fisiología de la misma, los procesos del metabolismo y del crecimiento y desarrollo de los fetos y neonatos. Algunos de estos defectos pueden ser prevenibles, diagnosticados y manejados oportunamente; esta última acción permite ofrecer a la madre atención con calidad al momento de la resolución obstétrica y, al neonato, posibilidades de una mejor condición de vida. (12)

En los últimos años, los logros obtenidos en el campo de la genética y del diagnóstico prenatal, han tenido gran trascendencia y se orientan a proporcionar la detección temprana de alteraciones fetales o complicaciones maternas que colocan en riesgo al binomio madre-hijo, así como a plantear estrategias dirigidas a reducir el riesgo de recurrencia. (12)

En esta Norma Oficial Mexicana, se incluyen los principales defectos prevenibles o susceptibles de diagnóstico temprano, así como las medidas de prevención y control que puedan tener un impacto epidemiológico prioritario en las tasas de morbilidad y mortalidad perinatal durante un periodo no mayor de cinco años. (12)

En su punto 3.12, se definen como defecto al nacimiento; a cualquier anomalía del desarrollo anatomofuncional, del crecimiento/maduración y metabólico, presente al nacimiento, notoria o latente; que interfiera la correcta adaptación del individuo al medio extrauterino en los aspectos biológicos, psíquicos y sociales; que sean capaces o no de ocasionar la muerte o la discapacidad para crecer y desarrollarse en las mejores condiciones, en alguna etapa del ciclo vital. (12)

Considerando así, la inmadurez pulmonar fetal en el recién nacido, como un factor que altere el desarrollo anatomofuncional en la vida extrauterina. Debido a ello, la determinación de madurez pulmonar fetal *in útero*, por conteo de cuerpos lamelares por citometría de flujo con un valor debajo de 35 mil (como se propone en el presente

protocolo); esta legalmente fundamentada como un método diagnóstico, para la reducción de la dificultad respiratoria aguda en el recién nacido, en nuestro medio.

La Norma Oficial Mexicana (PROY-NOM-007-SSA2-2010), "para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y del recién nacido sano", hace referencia a lo normado en el artículo 4° de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos, que establece el derecho de toda persona a la protección de la salud y a decidir de manera libre, responsable e informada, sobre el número y el espaciamiento de sus hijos. También, la Ley General de Salud, en su artículo 3°, fracción IV; establece que se considera a la atención materno-infantil, como materia de salubridad general. El artículo 61 del mismo ordenamiento jurídico, reconoce su carácter prioritario mediante acciones específicas para la atención de la mujer durante su embarazo, parto y puerperio; así como del recién nacido y etapas posteriores, vigilando su crecimiento y desarrollo. El Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva, es la instancia responsable de la Secretaría de Salud para la vigilancia y seguimiento del programa de acción "Arranque Parejo en la Vida", de acuerdo al Reglamento Interior de la Secretaría de Salud. (13)

Se puntualizan las acciones a cumplir en cada consulta y que estas deban realizarse meticulosamente con un análisis e interpretación correcta de los resultados que se obtengan de pruebas rápidas de laboratorio y, en su caso, de gabinete. Al mejorar la atención prenatal, se contribuirá a la identificación oportuna de posibles complicaciones en una fase temprana y, por lo tanto, a la solución médica o quirúrgica más indicada, con mínimas secuelas y con una evolución satisfactoria. (13)

Ésta Norma es de observancia obligatoria; para todo el personal de salud en las unidades de salud de los sectores público, social y privado del Sistema Nacional de Salud; y que brindan atención a mujeres embarazadas, parturientas, puérperas normales y a los recién nacidos sanos.(13) Así se ha aplicado en el presente estudio.

De manera conjunta, con todo lo ya referido y normado, se considera de apoyo para el médico la Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento del Síndrome de Dificultad Respiratoria en el Recién Nacido (IMSS 137-08), de donde se ha basado ésta investigación para la atención del recién nacido con dificultad respiratoria. Se ha tratado



de disminuir su comorbilidad y principalmente, la prevención en ésta entidad, objetivo principal de éste proyecto. (14).

Con lo referente a la Norma Oficial Mexicana (NOM-015-SSA2-2010), para la Prevención, Tratamiento y Control de la Diabetes Mellitus; su aplicación contribuirá a reducir la elevada incidencia de la enfermedad, a evitar o retrasar sus complicaciones y a disminuir la mortalidad asociada a esta causa; y así aumentar la detección oportuna de éste padecimiento, y disminuir las complicaciones que afectan al producto en cuanto a la inmadurez pulmonar fetal.(15)



1.4 MARCO CONCEPTUAL

Cuerpos Lamelares.

Estructura unitaria rodeada de membrana, que se encuentran en el citoplasma de los neumocitos tipo 2 del parénquima pulmonar. Mide aproximadamente 0.2 a 1.5 micras de diámetro y contiene un número variable de laminillas circunferenciales osmofílicas compuestas de fosfolípidos, proteoglicanos y proteínas. (11)

Síndrome de dificultad respiratoria aguda.

Es una enfermedad caracterizada por inmadurez del desarrollo anatómico y fisiológico pulmonar del recién nacido, cuyo principal componente es la deficiencia cualitativa y cuantitativa del surfactante que causa desarrollo progresivo de atelectasia pulmonar difusa e inadecuado intercambio gaseoso. (14)

Maduración pulmonar.

Se define a la maduración pulmonar fetal (MPF), como al estado óptimo del feto en relación a su crecimiento físico y desarrollo funcional que le permite al nacer poder realizar la ventilación adecuada en la vida extrauterina.

Citómetro de flujo.

La citometría de flujo (CMF), es una técnica de análisis celular multiparamétrico cuyo fundamento se basa en hacer pasar una suspensión de partículas (generalmente células) alineadas y de una en una por delante de un haz de láser focalizado, que las identifica como partícula individual.

Parto pretérmino.

El nacimiento prematuro es definido como de menos de 37 semanas completas de gestación, definición estándar de la OMS. (12)

Clasificación de recién nacido pretérmino según edad gestacional.

- Prematuro tardío: Aquellos nacidos entre las 32.1 y 37 semanas (12)
- Prematuro temprano: Aquellos nacidos entre las 28 y 32 semanas.(12)
- Prematuro lejano a la viabilidad: Aquellos nacidos antes de las 28 semanas.(12)

Pruebas d maduración pulmonar fetal.

Toda prueba que tiene la capacidad de determinar la presencia mediante la propiedades físicas conferidas al líquido amniótico por el surfactante pulmonar fetal (art 1990).

Conteo de cuerpos lamelares.

Prueba de madurez pulmonar fetal que se basa en la detección de los cuerpos lamelares suspendidos en el LA mediante la medición de su volumen.

Comorbilidad.

La presencia de uno o más trastornos (o enfermedades), además de la enfermedad o trastorno primario.

CAPITULO 2. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Hospital de la Mujer de la ciudad de Aguascalientes, es un hospital de atención materno infantil y ginecológico, que cuenta con una con una población médica de 200 entre médicos adscritos, suplentes, residentes, internos y estudiantes. La población que tiene acceso a la atención medica son mujeres y neonatos. Se atiende a población abierta del estado y de comunidades cercanas de los estado vecinos: Jalisco, Zacatecas y San Luis Potosí.

En el hospital se reporta una incidencia de nacimientos pre término de alrededor de 30%, constituyendo un problema de salud importante para el hospital, a nivel nacional y mundial.

El Hospital de la Mujer de Aguascalientes, tiene la característica de ser de referencia en el estado y estados circunvecinos, dando servicio a pacientes sin atención previa y con desconocimiento de su historia clínica prenatal. En ocasiones, se reciben de manera oportuna, quienes son atendidas por el servicio de embarazo de bajo riesgo; y también las pacientes que requieren de atención especial, a cargo del servicio de perinatología, que atiende pacientes con alguna morbilidad materna, fetal o ambas; y cuya población de riesgo elevado, amerita con frecuencia, la interrupción de la gestación a cualquier edad gestacional. Es indispensable apoyarse de herramientas diagnosticas, con buena sensibilidad y especificidad; que permita el determinar madurez pulmonar fetal, independientemente de la edad gestacional resultando trascendental para mejorar los resultados perinatales.

Tradicionalmente se había utilizado el test de Clements como herramienta de diagnóstico para la madurez pulmonar fetal; sin embargo, debido a los costos de adquisición de insumos para dicha prueba y el cierto grado de complejidad para la realización, su uso se ha visto limitado hasta cierto punto. Por otra parte, se trata de una prueba con sensibilidad y especificidad limitadas, en relación a lo que se ha demostrado en publicaciones previas para el conteo de cuerpos lamelares en líquido amniótico por citometría de flujo, que es el método más económico y sencillo de medición desde 2012 en éste hospital. Como única



prueba al alcance, es sencilla y económica; con acceso fácil y reproducibilidad en cualquier unidad hospitalaria que cuente con laboratorio y equipo de citometría para el conteo automatizado de células sanguíneas, es decir; la biometría hemática.

Esta prueba ha sido ampliamente validada en la literatura mundial, contando con estudios experimentales realizados, en donde se confirma su utilidad y alta eficacia. Sin embargo, no hay un consenso en cuanto a los criterios utilizados para su interpretación. Existen varias propuestas con puntos de corte desde 32,000 hasta los más altos descritos en 50,000; lo cual dificulta su uso rutinario. Se decidió utilizar para este estudio, uno de los puntos de corte intermedios, el cual se ha fijado en $\geq 35,000$; con el fin de evitar riesgos de un mal resultado perinatal y la repercusión pulmonar en el neonato.

El recuento de cuerpos lamelares, es una prueba de determinación de madurez pulmonar rápida. Esta predicción es importante en muchas situaciones obstétricas; tales como trabajo de parto prematuro, ruptura prematura de membranas, manejo de eclampsia, sufrimiento fetal y término electivo de embarazo. Por la evaluación del número y el tamaño de distribución de los cuerpos lamelares en el fluido amniótico, se puede predecir la madurez fetal del pulmón.

Palabras clave: Cuerpos lamelares, prematuro, madurez pulmonar fetal, citometría de flujo.

PREGUNTA

¿Cuál es la correlación clínica de la condición pulmonar de un recién nacido con antecedente de un conteo de cuerpos lamelares por citometría de flujo igual o mayor a 35 mil en líquido amniótico, atendidos en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes?



CAPÍTULO 3. OBJETIVOS

3.1 GENERAL.

- Establecer la correlación clínica entre el conteo de cuerpos lamelares con punto de corte de $\geq 35\ 000$ FI, y ausencia de síndrome de dificultad respiratoria en el recién nacido.

3.2 ESPECÍFICOS.

- Identificar la incidencia de dificultad respiratoria en recién nacidos con conteo de cuerpos lamelares por debajo de 35, 000.
- Demostrar la fácil reproducibilidad de la prueba y su eficacia.
- Conocer la comorbilidad neonatal asociada a dificultad respiratoria en fetos con conteo de cuerpos lamelares $\geq 35\ 000$.
- Analizar el valor de cuerpos lamelares en pacientes diabéticas versus pacientes no diabéticas, en el que se presenta síndrome de dificultad respiratoria en el recién nacido.
- Analizar el valor de cuerpos lamelares en pacientes diabéticas versus pacientes no diabéticas, en el que se presenta síndrome de dificultad respiratoria en el recién nacido.

CAPÍTULO 4. HIPÓTESIS

4.1 *Ha ALTERNA.*

Los recién nacidos, con cuantificación de cuerpos lamelares por encima de 35 mil por citometría de flujo en líquido amniótico, no presentan síndrome de dificultad respiratoria neonatal.

4.2 *Ho NULA.*

Los recién nacidos, con cuantificación de cuerpos lamelares por encima de 35 mil por citometría de flujo, en líquido amniótico, presentan síndrome de dificultad respiratoria neonatal.

CAPÍTULO 5. MATERIAL, PACIENTES Y MÉTODOS

5.1 ESTUDIO OBSERVACIONAL: Descriptivo, transversal y prospectivo.

5.2 POBLACIÓN EN ESTUDIO.

Pacientes que acudan al Hospital de la Mujer, al servicio de embarazo de alto riesgo entre las 28 y 38 semanas de gestación; con cualquier indicación obstétrica o fetal que amerite determinar el grado de madurez pulmonar fetal y la confirmación de ésta, para una interrupción del embarazo a corto plazo.

En un periodo de tiempo comprendido entre el 1° de agosto de 2012 al 1° de diciembre de 2013.

5.3 VARIABLES.

Variable	Definición Operacional	Escala de medición	Tipo/ característica	Unidades
Edad gestacional momento de la punción (semanas)	Duración del embarazo calculada desde el primer día de la última menstruación, hasta el nacimiento o hasta el evento gestacional en estudio. Se expresa en semanas y días completos.	Término Edad gestacional > 37 semanas Prematuro Edad gestacional < 37 semanas	cuantitativa discontinua	semanas/ días
Peso para edad gestacional (gr)	La cantidad de materia que está presente en un cuerpo.	Hipertrófico Eutrófico Hipotrófico	cuantitativa continua	gramos
Conteo de cuerpos	Prueba de madurez	Menor 35 mil	cualitativa	menor de 35 mil u/l



lamelares (CCL)	pulmonar fetal basada en la cuantificación de las estructuras de almacenaje de los fosfolípidos suspendidos en el LA.	Mayor 35 mil	nominal	mayor de 35 mil u/l
Síndrome dificultad respiratoria (presencia o ausencia)	Alteración en la capacidad respiratoria del producto posterior al nacimiento.	Presencia: si Ausencia: no	cualitativa nominal	si SDRA no SDRA
Vía de resolución (parto o cesárea)	Se refiere a la vía de extracción utilizada para el nacimiento del producto de la concepción.	cesárea parto	cualitativa nominal	cesárea Parto
Escala de medición Silverman - Anderson	Es una escala de medición clínica, que valora la dificultad respiratoria de un recién nacido	Movimientos toraco/abdominales rítmicos y regulares = 0 puntos Tórax inmóvil y abdomen en movimiento = 1 punto Disociación toracoabdominal = 2 puntos Tiraje intercostal, no se aprecia = 0 puntos discreto = 1 punto Acentuado=2puntos Retracción xifoidea, no se aprecia = 0 puntos discreta = 1 punto Acentuada = 2 puntos	cuantitativa nominal	mayor de 3 con SDR menor de 3 sin SDR



		<p>Aleteo nasal no se aprecia = 0 puntos discreto = 1 punto Acentuado = 2 puntos</p> <p>Quejido espiratorio a la auscultación no se aprecia = 0 puntos leve = 1 punto acentuado = 2 puntos</p>		
Comorbilidad Materna	Patología presente en la mujer embarazada, asociada o no al estado gravido.	<p>Presencia</p> <p>Ausencia</p>	Cualitativa nominal	<p>Si = presencia</p> <p>No= Ausencia</p>

CAPÍTULO 6. CRITERIOS DE SELECCIÓN

6.1 Criterios de Inclusión.

Pacientes embarazadas con edades gestacionales comprendidas entre las 28 y 38 semanas de gestación.

Pacientes con embarazos únicos o múltiples.

Pacientes que requieran documentar la madurez pulmonar fetal en líquido amniótico para interrupción del embarazo a corto plazo.

Pacientes que acepten la extracción de muestra vía amniocentesis.

Paciente en quienes existe vía de acceso de amniocentesis transabdominal.

Pacientes en quienes se logra extracción de muestra adecuada en cantidad y calidad.

Pacientes con consentimiento informado y aceptación de amniocentesis.

Pacientes con bienestar fetal confirmado.

6.2 Criterios de exclusión.

Pacientes que no acepten la amniocentesis.

Pacientes con urgencia de resolución de embarazo inmediata.

Fetos con patología pulmonar diagnosticada.

Fetos con morbilidad que requiera de intubación inmediata.

Fetos con malformaciones que afecten su capacidad respiratoria al nacimiento.

6.3 Criterios de eliminación

Paciente en quienes se obtiene muestra de líquido amniótico contaminada con sangre o meconio.

Pacientes en quienes el recuento de cuerpos lamelares fue menor a 35,000 y no se decidió la interrupción de la gestación.

Pacientes que ingresaron al protocolo de estudio y la resolución del embarazo fue en otro hospital.

CAPÍTULO 7. RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

7.1 INSTRUMENTO.

El instrumento utilizado para el presente estudio fue por medio de bitácora. En donde se recopilaron los datos de cada variable analizada y los datos que se consideran pertinentes al tema de esta investigación.

La bitácora utilizada, contiene los siguientes datos:

Nombre de la paciente, edad, gravidez, diagnósticos, indicación de la amniocentesis, edad gestacional al momento de la amniocentesis, resultado del conteo de cuerpos lamelares, si se utilizó o no un esquema de madurez pulmonar fetal.

El peso fetal al nacimiento, la vía de nacimiento, la edad gestacional al nacimiento, indicación de la interrupción del embarazo, morbilidad al nacimiento, frecuencia de internamientos neonatales y causas.

7.2 LOGÍSTICA.

La cuantificación de cuerpos lamelares por citometría de flujo, se obtendrán de aquellos embarazos en los cuales se requiere documentar madurez pulmonar fetal previa a la interrupción del embarazo, bajo consentimiento informado de la paciente o familiar responsable.

El procedimiento para obtención de la muestra se realizó por medio de amniocentesis trans abdominal, previa asepsia y antisepsia, con colocación de campos estériles, por el médico ginecoobstetra, guiado por ultrasonido, para localizar sitios libre de placenta, cordón y partes fetales. Se realiza la introducción de aguja tipo whitacre calibre 22Gy, con un máximo de dos intentos. Se realiza la extracción del líquido en primer tiempo de 2cc para purgar, y posteriormente se recolectan 3cc de líquido amniótico. Se realizó una observación visual directa con el fin de descartar contaminación por líquido hemático o meconial.

Se envía para su análisis a laboratorio del hospital, solicitando lectura en citómetro de flujo automatizado y calibrado tipo Coulter, como lectura de plaquetas, sin centrifugación de la muestra.

Se recabó el resultado, y en los casos en que el resultado de recuento plaquetario sea mayor de 35,000; se decide interrupción del embarazo, en caso de una cifra menor a dicho rango, se postergó la resolución hasta alcanzar la madurez pulmonar fetal, ya fuera de forma espontánea o inducida de forma medicamentosa.

Aunque no existe un consenso mundial a cerca de los puntos de corte tomados para una adecuada interpretación del conteo de cuerpos lamelares, se decidió tomar un punto de corte único en valores intermedios a los propuestos por los diversos autores; tanto por ser totalmente carentes de experiencia acerca de los resultados de la prueba en el centro hospitalario, así como con el fin de elegir un punto medio entre ellos; tratando de evitar resultados adversos en los neonatos al elegir recuentos muy bajos que pudieran condicionar dificultad respiratoria al nacimiento de los productos.

Se revisaron los expedientes clínicos de la madre y del neonato para registrar ausencia de dificultad respiratoria al nacimiento, así como las evaluaciones de Silverman Anderson, la morbilidad neonatal agregada, la incidencia de síndrome de dificultad respiratoria aguda, con el fin de evaluar el resultado neonatal de los productos muestreados.

7.3 PROCESO DE INFORMACIÓN.

En base al instrumento de recolección elegido, que es la bitácora, se identificó a cada paciente con un número, en el cual se colocaron los datos e información necesaria para cada paciente. En donde se incluía edad, número de gestas, edad gestacional, embarazo único o gemelar, valor de cuerpos lamelares, comorbilidad materna, comorbilidad fetal, presencia o ausencia de síndrome de dificultad respiratoria.

CAPÍTULO 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó estadística descriptiva utilizando, para variables cuantitativas, medidas de tendencia central y de dispersión; y para variables cualitativas, frecuencias y porcentajes. En cuanto a estadística inferencial (analítica), se realizaron cruces de variables con chi cuadrada para variables cualitativas y pruebas de t student para variables cuantitativas. Se utilizó el programa SPSS versión 1.4.



CAPÍTULO 9 . CONSIDERACIONES ÉTICAS

9.1 ASPECTOS ÉTICOS.

La amniocentesis no es un procedimiento exento de complicaciones, aunque se describe la incidencia de las mismas en un bajo porcentaje, existen y se describen a continuación:

- a) Maternas: Infección intrauterina (1/1000 casos), hemorragia uterina, actividad uterina.
- b) Fetales: Ruptura prematura de membranas, corioamnioitis, parto pretérmino, amenaza de parto pre término, desprendimiento de placenta, punción del cordón umbilical, hemorragia masiva por punción del cordón, bradicardia fetal secundaria a reacción vagal por la punción funicular.

Todas las amniocentesis fueron realizadas con la debida autorización de la paciente, previa descripción de los riesgos antes mencionados.

Cada procedimiento tenía una indicación absoluta para su realización, no se realizó ninguna amniocentesis que no estuvieran médicamente indicadas, para los propósitos de ésta investigación.

En cuanto al manejo de la información, los resultados se presentan en forma global y se guarda la confidencialidad de las pacientes.

De igual forma, se cumple con los parámetros de Belmont y Helksinki de 1964, enmendada en Tokio en 1975, así como su última modificación en Edimburgo de 2002. Se cumple con los puntos de CONSORT.

CAPÍTULO 10. RECURSOS PARA EL ESTUDIO

10.1 HUMANOS.

Participaron el estudio médicos perinatólogos (2), enfermera (1), médico becario (1) y personal de laboratorio capacitado para procesamiento de muestras en citómetro de flujo.

10.2 MATERIALES.

Equipo de ultrasonido en tiempo real (aloka pure hd), con transductor convexo multifrecuencia.

Agujas whitacre calibre 22gy.

Jeringas de 3 ml y 10 ml.

Ropa estéril.

Guantes estériles.

Gasas estériles.

Gel conductor para ultrasonido.

Gel antiséptico.

Funda para transductor abdominal.

Citómetro de flujo tipo Coulter, calibrado y que no se centrifugue la muestra de LA.

Expedientes clínicos.

10.3 FINANCIEROS.

El valor comercial en el mercado de una biometría hemática es de \$100 M.N. en promedio; sin embargo, para éste hospital, el procesamiento de las muestras no significó un gasto extraordinario; ya que el mismo personal de laboratorio que funciona normalmente para la realización de cualquier prueba, es el que se encargó del procesamiento de las muestras, así como el equipo procesador de citometrías, se encontraba disponible en la unidad.

CAPÍTULO 11. RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio un total de 101 pacientes, de las cuales dos fueron excluidas debido a obtención de muestra inadecuada, y otra más, debido a que no se resolvió el embarazo en éste hospital. Restaron un total de 98 pacientes gestantes. En la siguiente tabla se describen edades y número de gestas de cada paciente.

Tabla 2. Edad materna y paridad de la población.

	N	MEDIA	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	MÍNIMO	MÁXIMO	25	50	75
Edad materna	101	29.2	6.4	14	41	25	29	34
Gesta	101	2.85	1.98	1	9	1	2	4

Fuente: Recolección de datos.

Las 101 pacientes, presentaban un rango de edades de entre 14 y 41 años, con una media de 29 años. La mayoría de ellas multíparas, con una media de tres gestaciones.

Tabla 3. Embarazo único o gemelar.

	FRECUENCIA	PORCENTAJE
EMBARAZO ÚNICO	92	93.8
EMBARAZO DOBLE	6	6.1
TOTAL	98	100

Fuente: Recolección de datos

De los 98 gestaciones analizadas, la mayoría de las muestras se obtuvieron de embarazos únicos siendo 93.8%, y 6.1% correspondió a muestreo de embarazos dobles biamnióticos y bicoriónicos; puncionando cada una de las bolsas, lo cual es de utilidad para valorar disparidad de comportamientos posibles entre embarazos gemelares y embarazos únicos. Por lo tanto, algunas pacientes se muestrearon dos veces, por tratarse de embarazos biamnióticos; por lo que el total de muestras de LA analizadas fue de 104.

Tabla 4. Comorbilidad materna.

Comorbilidad materna	Patologías	Frecuencia	Porcentaje
	Sin patología	16	16.3
	Diabetes Gestacional	27	27.5
	Hipertensión Gestacional	13	13.2
	Preeclampsia Severa	11	11.2
	Insuficiencia Renal Crónica	2	2.04
	Intolerancia a Carbohidratos	2	2.04
	Leucemia	2	2.04
	DM 2	4	4.08
	Amenaza Parto	4	4.08
	Colestasis Hepática	2	2.04
	Otras causas*	15	15.3
	Total	98	100.0

Fuente: Instrumento de recolección de información.

Dentro de las comorbilidades maternas incluidas en el estudio, la que presentó mayor número de casos con una frecuencia de 27 casos (27.5%) fue la diabetes gestacional, seguida por las madres sin comorbilidad con 16 casos (16.3%), otras causas*; como anemia ferropénica, colelitiasis, pielonefritis, infección de vías urinarias, miastenia gravis, y asma, con 15 casos (15.3%); hipertensión gestacional con 13 casos (13.2%), preeclampsia severa con 11 casos (11.2%). Diabetes mellitus y amenaza de parto

pretermino presentaron una frecuencia de 4 casos (4.08%); intolerancia a los carbohidratos, insuficiencia renal crónica, leucemia aguda y colestasis intrahepática; presentaron la misma frecuencia con un total de dos casos (2.04%).

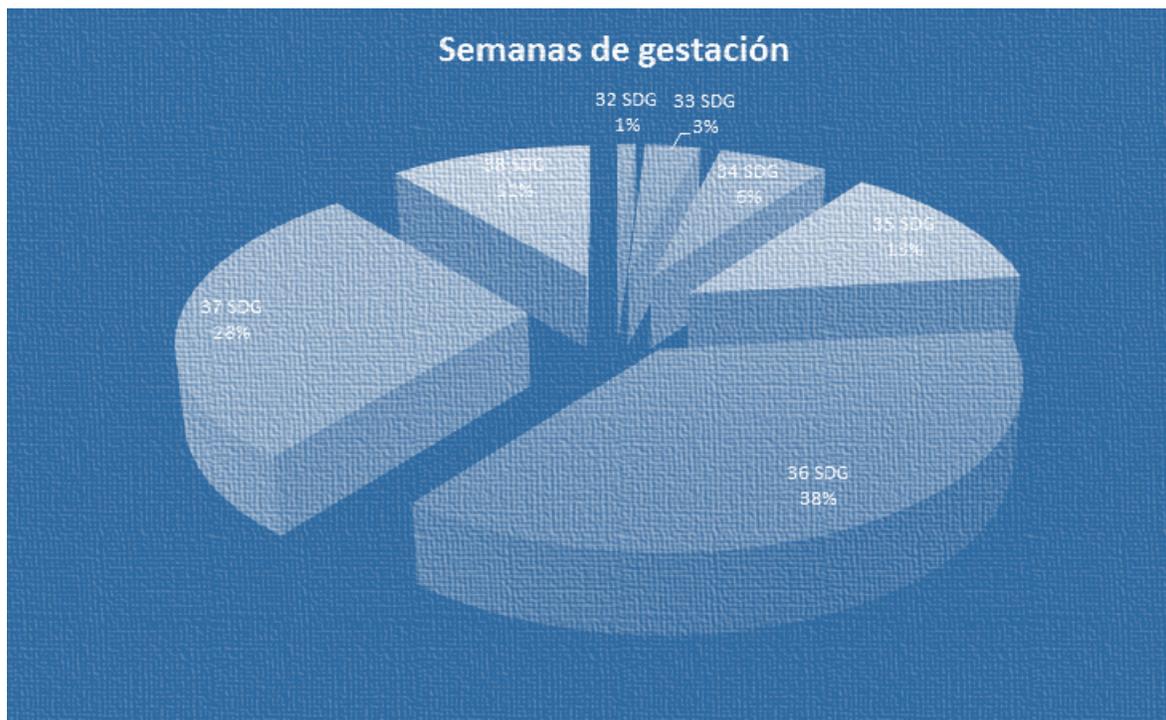


Gráfico 1. Edad gestacional al momento de la amniocentesis.

Fuente: Instrumento de recolección de datos.

La figura 1, representa la edad gestacional al momento de las amniocentesis realizadas en este estudio. Las edades oscilaron entre las 32 y 38 semanas con la siguiente presentación para cada grupo: La edad gestacional de 32 a 32.6 semanas, fue de 1%; de 33 a 33.6 semanas, fue de 3 %; de 34 a 34.6 semanas, fue de 6%; de 35 a 35.6 semanas, fue de 1%; de 36 a 36.6 semanas, fue de 38%; de la semana 37 a 37.6 fue de 28%; de la semana 38 a 38.6 fue de 11%. La mayoría de los casos se ubicó en el rango de 36 a 36.6 semanas.

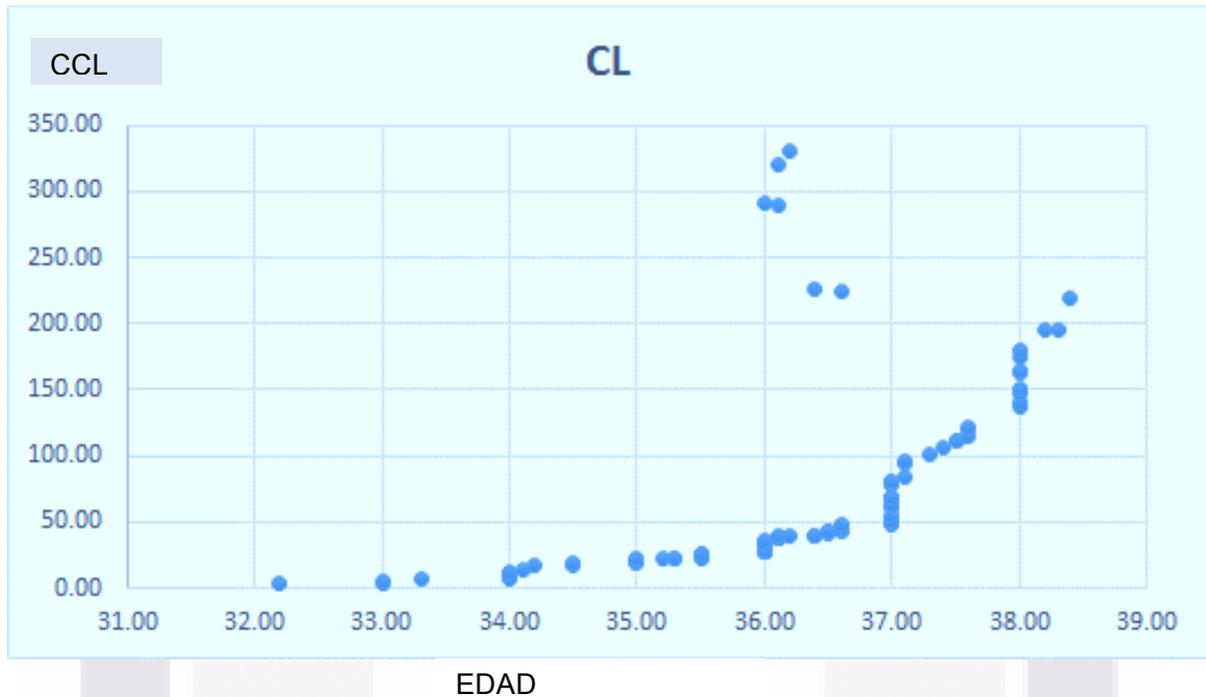


Gráfico 2. Resultados de conteo de cuerpos lamelares en relación a edad gestacional.

Fuente: Instrumento de recolección de datos.

En la figura 2, se muestra la relación de la cantidad de cuerpos lamelares con la edad gestacional al momento de la realización de amniocentesis, con una edad gestacional entre 32 y 38 semanas. El valor de cuerpos lamelares mayor a 35 mil, se encontró en las pacientes con edad gestacional mayor a 35 semanas.

De las 104 amniocentesis realizadas para la obtención de cada muestra, no se reportó ningún tipo de complicaciones o reacciones adversas en la madre o en el producto.

Tabla 5. Conteo de cuerpos lamelares por citometría de flujo con punto de corte de igual o mayor a 35 mil.

CCL	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Menor de 35 mil	36	34.6	34.7	34.7
Mayor o igual de 35 mil	68	65.3	65.3	100.0
Total	104	99.9	100.0	

Fuente: Instrumento para recolección de datos.

De las 104 muestras de líquido amniótico analizadas por citometría de flujo para CCL, 68 (65.3%) de ellas tuvieron resultados igual o mayor a 35 000 CCL. Las otras 36 muestras (34.6%) fueron menores a 35 000 CCL.

Una vez reportada la cuantificación de cuerpos lamelares de la población muestreada, se observó un total de 36 casos por debajo de 35,000 CCL; lo cual se interpretó como inmadurez pulmonar fetal y, por lo tanto, se decidió aplazar en algunos de ellos, el nacimiento hasta inducir madurez pulmonar fetal. Por esto, se eliminaron del análisis el comportamiento neonatal al nacimiento, debido a que la medicación utilizada modifica de forma esperada, el comportamiento funcional del pulmón al nacimiento. No se pudo correlacionar de manera confiable con el CCL reportado. En los siete casos restantes, no fue posible diferir el nacimiento del producto, a pesar de la inmadurez pulmonar de los productos confirmada por CCL; todos menores a 35,000; los cuales oscilaron en un rango entre 22,000 y 33,000. Éstos ameritaron la interrupción, dentro de las primeras 24 hrs.

Postamniocentesis, por lo que solo en esta población se puede asociar la condición fetal al nacimiento con su CCL previo.

Las indicaciones de la interrupción fueron meramente obstétricas, entre las cuales se encuentran: oligohidramnios (1 caso), preeclampsia severa (2 casos), baja reserva fetal (3 casos), trabajo de parto con presentación pélvica (1 caso) e insuficiencia renal crónica clase V (1 caso).

La población de recién nacidos analizada, posterior a éste último proceso de eliminación de sesgos, fue de 77 neonatos. A continuación, se enuncian las características epidemiológicas de los neonatos estudiados.

Tabla 6. Edad gestacional al nacimiento por Capurro y peso de los recién nacidos.

	N	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Percentiles		
						25	50 (Mediana)	75
Capurro	77	36.40	1.398	32	40	35.50	36.55	37.10
Peso	77	2720.88	595.314	1000	4750	2300.00	2700.00	3100.00

Fuente: Instrumento de recolección de datos.

La edad gestacional, por Capurro de los recién nacidos, se encontró entre las semanas 32 y 40, con una edad gestacional media de 36 semanas y 4 días, al momento del nacimiento. Con un peso entre 1000 gr. como mínimo y 4,750 gr. para el máximo y con



una media de 2,720grs. Lo anterior demuestra amplia heterogeneidad entre los recién nacidos estudiados y la utilidad del muestreo en ella.

Tabla 7. Comorbilidad neonatal que condicione dificultad respiratoria.

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Con comorbilidad Neonatal	3	3.8	3.9
Sin comorbilidad Neonatal	74	96.1	96.1
Total	77	99.9	100.0
P= .0001 Correlación .518			

Fuente: Instrumento de recolección de datos.

De los recién nacidos incluidos en el estudio, la comorbilidad neonatal que condicionó dificultad pulmonar fetal, independientemente del grado de madurez, sólo se identificó en tres de los casos (3.8%), todos ellos correspondían al grupo con CCL \geq 35000 y sin comorbilidad fetal 74 (96.1%) recién nacidos. Cabe aclarar que la morbilidad neonatal onservada en los tres casos antes mencionados consistieron en un caso de síndrome de Prunebelly clase II, cardiopatía congénita cianógeno no diagnosticada prenatalmente (de el cual se ignora el diagnóstico preciso, ya que se refirió al producto a un centro de tercer nivel para su atención) y un síndrome de aspiración meconial (SAM).

Tabla 8. Incidencia de dificultad respiratoria aguda evaluada con escala de Silverman Anderson modificada.

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
SDRA	10	12.9	12.9	12.9
NO SDRA	67	87	87.1	100.0
Total	77	99.9	100.0	
P= 0.0001				
Correlación= .81				

Fuente: Escala de Silverman- Anderson modificada

Tabla 9. Presencia de SDRA en relación al punto de corte \geq a 35,000 conteo de cuerpos lamelares por citometría de flujo.

	SDRA		Total
	SI	NO	
MENOR 35 CCL	7	0	7
MAYOR 35 CCL	3	67	70
Total	10	67	77
P= 0.0001			

Fuente: Instrumento para recolección de datos.



De los 77 recién nacidos que se incluyeron en el estudio, 10 (12.9%) presentaron síndrome de dificultad respiratoria neonatal, según los criterios de la escala de Silverman Anderson modificada. La mayoría de ellos correspondían al grupo de CCL menor de 35,000 y sólo 3 de los casos correspondían al grupo de >35,000; que son los casos identificados con morbilidad neonatal asociada. Los otros 67 (87%) recién nacidos, no presentaron síndrome de dificultad respiratoria aguda y correspondían, en su totalidad, al grupo de CCL > a 35,000.

De las 7 muestras analizadas con resultados inferiores a 35 mil de cuerpos lamelares por citometría de flujo en líquido amniótico, todos presentaron dificultad respiratoria. Los resultados muestran una correlación estadísticamente significativa entre la presencia o ausencia de dificultad respiratoria en los neonatos y el punto de corte de 35,000; lo que demuestra 100% de sensibilidad.

En el caso de los 7 recién nacidos que presentaron SDRA con un punto de corte menor a 35,000; no se encontraron patologías que se asocien, únicamente la inmadurez pulmonar.

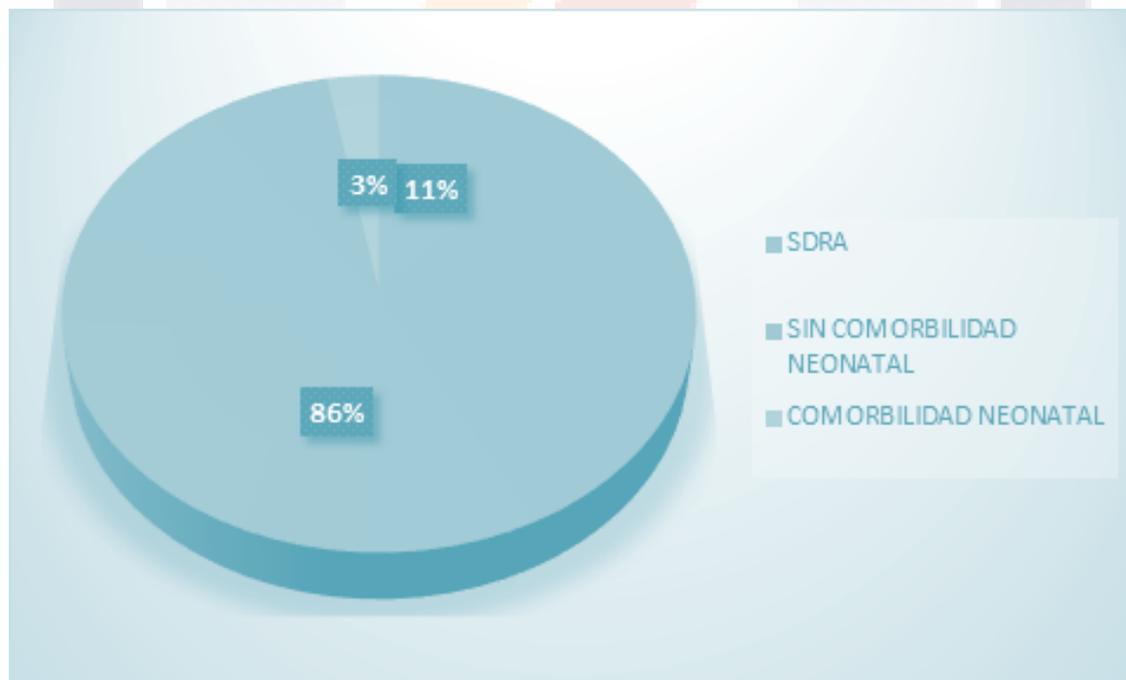


Gráfico 3. Comorbilidad neonatal.
FUENTE: Instrumento de recolección de datos.

Tabla 10. Correlación de la presencia de SDRA en pacientes con diabetes.

	CCL		Total
	MENOR 35 MIL	IGUAL O > 35 MIL	
Sin diabetes asociada a gestación	22	43	65
Con diabetes asociada a la gestación	5	28	33
Total	27	71	98
P = 0.46			

Fuente: instrumento para recolección de datos

Dentro de las pacientes incluidas en el presente estudio, se encontraron 33 con presencia de diabetes; de las cuales 28 tuvieron resultados de cuerpos lamelares igual o mayor a 35 mil y sin presentar dificultad respiratoria en el recién nacido. Únicamente 5 resultados fueron menores a 35 mil y presentaron síndrome de dificultad respiratoria. Lo cual implica una relación estadísticamente significativa.

CAPÍTULO 12. DISCUSIÓN

En éste estudio, se encontró una sensibilidad de 100% a la prueba de CCL, interpretándola con un punto de corte mayor o igual a 35,000; ya que no se observó ningún caso de dificultad respiratoria relacionado directamente con SDR, sin que existiera comorbilidad neonatal agregada. En la literatura, se han propuesto puntos de corte menores; sin embargo, la sociedad española fijó el punto de corte a partir de 35,000 para considerar la madurez pulmonar fetal. No se pudo obtener en éste estudio, muestras con conteos de entre 32,000 a 35,000 para poder evaluar su utilidad o el resultado perinatal de estos puntos de corte; como proponen Dalence, *et.al* y Perego, *et.al* sobre el punto de corte para la interpretación de ésta prueba (utilizando un valor de 30,000 fl.); predicen madurez pulmonar en 100% de los casos, mientras que, valores menores a 10,000 fl.; coinciden en 100% de inmadurez en pruebas de líquido amniótico no centrifugadas.

En el estudio, el mínimo conteo de lamelares dentro del grupo que se interrumpió de inmediato, se reportó en 14,000 y un máximo de 23,000. Todos los casos se asociaron con la presencia de SDR por inmadurez pulmonar fetal, sin necesidad de que se presentaran conteos tan bajos como 10,000; como reportan por los autores.

La determinación de la madurez pulmonar fetal por la técnica de conteo de cuerpos lamelares por citometría de flujo, resultó ser un método de fácil reproducibilidad y que no significó gastos hospitalarios excesivos, o fuera del presupuesto habitual que se destina al laboratorio, ya que el insumo es el mismo que el que se ocupa habitualmente.

Se describe en la bibliografía que el síndrome de dificultad respiratoria en el neonato, no siempre es secundario a inmadurez pulmonar. Que hay distintas patologías que coexisten con este padecimiento, y para su manejo, Coto, *et. al*; lo ha dividido en categorías para un mejor enfoque diagnóstico y terapéutico:

1. Distress Respiratorio: Taquipnea transitoria, aspiración meconial, neumotórax/neumomediastino, neumonía perinatal, hipertensión pulmonar persistente, hemorragia pulmonar y agenesia-hipoplasia pulmonar.
 2. Malformaciones: Hernia diafragmática, atresia de esófago, enfisema lobar congénito, malformación quística adenomatoidea, Síndrome Prune Belly
- Categorías I y II.



3. Obstrucción vía aérea superior: Atresia de coanas y síndrome de Pierre-Robin.
4. Causas cardiovasculares: Cardiopatías congénitas, cianógenas, arritmia cardíaca y miocardiopatía.
5. Causas infecciosas: Sepsis / Meningitis neonatal.
6. Causas metabólicas: Acidosis metabólica, hipoglucemia e hipotermia / hipertermia.
7. Causas hematológicas: Anemia e hiperviscosidad.
8. Causas neurológicas: Asfixia y lesión difusa del SNC.

Los resultados en este estudio, coinciden en que con maduración pulmonar, demostrada por CCL (en citometría de flujo con punto de corte $\geq 35,000$); tres recién nacidos con patologías de síndrome de aspiración meconial, cardiopatía congénita cianógena y síndrome de Prune Belly Clase II, presentaron síndrome de dificultad respiratoria del recién nacido.

En los grupos analizados en este estudio, todas las pacientes con comorbilidad materna de tipo diabetes (diabetes gestacional, intolerancia a los carbohidratos y diabetes mellitus); contaban con control metabólico adecuado. Sustentado por monitoreo estricto intra y extrahospitalario; con glucometrías, cifras de hemoglobina glucosilada y perfil de crecimiento ultrasonográfico. En donde se utilizó la medición de maduración pulmonar, con conteo de cuerpos lamelares por citometría de flujo con un punto de corte $\geq 35,000$; se encontraron 33 casos positivos para diabetes en el embarazo. De ellos, 28 con valores iguales o mayores a 35,000 de CCL; los recién nacidos no presentaron dificultad respiratoria. Con resultados de CCL menores al punto de corte ya referidos, se encontraron cinco casos, que por indicación obstétrica; se decidió la interrupción de la gestación, los recién nacidos presentaron dificultad respiratoria, secundario a inmadurez pulmonar. De estos resultados se puede inferir que la prueba de CCL, no debe ser modificada, en cuanto la forma de interpretación en las gestantes diabéticas en quienes, el mismo punto de corte, demostró ser de utilidad de una forma equiparable a la gestante no diabética.

CONCLUSIONES

A pesar de la falta de consenso mundial a cerca de los puntos de corte para su interpretación, lo demostrado en este trabajo apoya 100% de sensibilidad del valor de corte utilizado de 35,000. Sin embargo, recomendamos que cada laboratorio debe ajustar sus propios puntos de corte para su población.

También se apoya la utilidad de no centrifugar la muestra, con el fin de evitar sesgos en los resultados y poder estandarizar un valor de interpretación de utilidad universal para la madurez pulmonar fetal.

La mayor ventaja de la prueba radica en su sencillez, rapidez y bajos costos; así como, su eficacia bien comprobada, por lo que es una prueba altamente recomendable en cualquier medio.

Después de que se introdujo la prueba en el hospital, se comenzó a considerar como una nueva herramienta de alta confiabilidad y utilidad clínica en la prevención del síndrome de dificultad respiratoria; en aquellos fetos susceptibles de tratamiento para inducir madurez pulmonar fetal.

La muestra demostró también ser de gran utilidad en una población de alta incidencia en el hospital; como son las diabéticas gestantes, quienes presentan el principal factor de retraso en la madurez pulmonar fetal y en quienes la prueba es de suma utilidad.

SUGERENCIAS

Es necesario correr estudios prospectivos y bien diseñados, con muestras más amplias para tratar de identificar los puntos de corte para la población.

También es necesario un estudio donde se planea la realización de CCL, previo a la intervención médica en el neonato, para inducir madurez pulmonar fetal y observar posterior a ella el CCL como evidencia a la respuesta terapéutica.

GLOSARIO

Cuerpos Lamelares.

Estructura unitaria rodeada de membrana, que se encuentran en el citoplasma de los neumocitos tipo 2 del parénquima pulmonar. Mide aproximadamente 0.2-1.5 micras de diámetro y contiene un número variable de laminillas circunferenciales osmofílicas compuestas de fosfolípidos, proteoglicanos y proteínas.

Síndrome de dificultad respiratoria aguda.

Es una enfermedad caracterizada por inmadurez del desarrollo anatómico y fisiológico pulmonar del recién nacido, cuyo principal componente es la deficiencia cualitativa y cuantitativa del surfactante que causa desarrollo progresivo de atelectasia pulmonar difusa e inadecuado intercambio gaseoso.

Maduración pulmonar.

Se define a la maduración pulmonar fetal (MPF), como al estado óptimo del feto en relación a su crecimiento físico y desarrollo funcional que le permite al nacer, poder realizar la ventilación adecuada en la vida extrauterina.

Citómetro de flujo.

La citometría de flujo (CMF), es una técnica de análisis celular multiparamétrico, cuyo fundamento se basa en hacer pasar una suspensión de partículas (generalmente células) alineadas y de una en una por delante de un haz de láser focalizado, que las identifica como partícula individual.

Conteo de cuerpos lamelares.

Prueba de madurez pulmonar fetal que se basa en la detección de los cuerpos lamelares suspendidos en el LA mediante la medición de su volumen.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ashwood ER, P. S. (1993). "Lamellar body counts for rapid fetal lung maturity testing". *Obstetrics and Gynecology*, 619-643.
2. Canales, D. J. (1984). "Pruebas de Madurez Fetal". *Revista Médica Honduras*, 28-40.
3. Chávez, A. R. (2008). "Efecto de inductores de madurez pulmonar". *Revista de Especialidades Médico Quirúrgicas*, 181-185.
4. Gadow, D. E. (2012). *Consenso sobre el uso de corticoesteroides para la prevención de Síndrome de Distress Respiratorio*.
5. GD, C. C. (2010). "Recién nacido a término con dificultad respiratoria: enfoque diagnóstico y terapéutico". *Protocolos Diagnóstico Terapéuticos: Neonatología AEP*, 285-304.
6. Hagen E, L. J. (1993). "A comparison of the accuracy of the TDx-FLM assay, lecithin/sphingomyelin ratio and phosphatidylglycerol in the prediction of neonatal respiratory distress syndrome". *Obstetrics and gynecology*, 1004-1012.
7. HALL, G. (2011). *Tratado de fisiología médica*. Madrid: Elsevier.
8. Laboratorio de las Américas. (7 de 11 de 2013). *Laboratorio de las Américas*. De: http://www.lablasamericas.com.co/site/index.php/examen/cuerpos_lamelares_en_liq_amniotico/#sthash.zfjbohtw.dpuf
9. MENDOZA MARTÍNEZ, TOMÁS DE JESÚS, M. P. (2005). "Retraso en la madurez pulmonar fetal en embarazadas complicadas con diabetes gestacional". *Ginecol Obstet Mex*, 183-193.
10. *Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993*, (1993). *Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido. Criterios y procedimientos para la prestación del servicio*. México D.F.: Diario Oficial de la Federación.
11. *NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-015-SSA2-2010*, (2010). *PARA LA PREVENCIÓN, TRATAMIENTO Y CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS*. México D.F.: Diario Oficial de la Federación.
12. *NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-034-SSA2-2002*, (2002). *PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE LOS DEFECTOS AL NACIMIENTO*. México D.F.: Diario Oficial de la Federación.



13. PEREGO, D. M. (2000). "Cuento de Cuerpos Lamelares en líquido amniótico: Evaluación como test rápido para la predicción de la madurez Pulmonar fetal". *Revista del Hospital Materno infantil Ramón Sardá*, 60-66.
14. RUIZ PARRA, A. I. (2010). "Predicción prenatal de la maduración pulmonar fetal por determinación de fosfolípidos y por recuento de cuerpos lamelares en líquido amniótico". *Medicina Bogotá*, 103-137.
15. SOCIAL, I. M. (2009). *Guía de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento del síndrome de dificultad respiratoria en el recién nacido*. México D.F.: CENETEC.
16. STRASEINGER, S. K. (2011). *Análisis de orina y de los líquidos corporales*. Boston: Medica Panamericana.
17. "The American-European Consensus Conference on ARDS: Definitions, mechanism, relevant outcomes and clinical coordination". (2012). *Respiratory Critical Care*.

ANEXOS

