

**MODIFICACION DEL NÚMERO DE CUERPOS LAMELARES POR LA  
APLICACION DE CORTICOIDES**

**DR. JOSÉ ANTONIO LARA ALVAREZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE SALUD  
ESCUELA DE MEDICINA  
ESPECIALIZACIÓN EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA  
BUCARAMANGA  
2009**

**MODIFICACION DEL NÚMERO DE CUERPOS LAMELARES POR LA  
APLICACION DE CORTICOIDES**

**DR. JOSÉ ANTONIO LARA ALVAREZ**

**Trabajo de Grado para Optar al Título de  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

**Directores**  
**MIGUEL ÁNGEL ALARCÓN NIVIA**  
**JUAN CARLOS OTERO**  
**Epidemiólogo Clínico**  
**Especialista en Ginecología y Obstetricia**

**Asesores Epidemiológicos**  
**DRA. RTUH ARA LI MARTÍNEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER**  
**FACULTAD DE SALUD**  
**ESCUELA DE MEDICINA**  
**ESPECIALIZACIÓN EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**  
**BUCARAMANGA**  
**2009**

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>10</b>
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
2.1 OBJETIVOS GENERALES	13
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	13
<b>3. MARCO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE</b>	<b>14</b>
<b>4. METODOLOGÍA PROPUESTA</b>	<b>24</b>
4.1 TIPO DE ESTUDIO	24
4.2 POBLACIÓN A ESTUDIO	24
4.3 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO	24
4.4 TAMAÑO DE MUESTRA	25
4.5 RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	25
4.6 TECNICA DE LABORATORIO PARA CUANTIFICAR LOS CUERPOS LAMELARES	26
5. ANALISIS ESTADISTICOS	28
6. RESULTADOS	29
7. DISCUSIÓN	35
8. RECOMENDACIONES	38
9. REFRENCIAS BIBLIOGRAFICAS	39

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Punto de corte en el conteo de cuerpos lamelares	22
Tabla 2. Características clínicas de las pacientes incluidas en el estudio	31
Tabla 3. Cuerpos lamelares en líquido amniótico posterior a la aplicación del corticoide. Análisis Bivariado.	34
Tabla 4. Cuerpos lamelares antes y después del uso de corticoides	35
Tabla 5. Comparación entre los cuerpos lamelares.	36
Tabla 6. Cuerpos lamelares con respecto a la edad de gestación y la dosis del corticoide.	36

## LISTA DE FIGURAS

		<b>Pág.</b>
Figura 1.	Esquema de un alvéolo y su estructura histológica	18
Figura 2.	Ultra microfotografía de un cuerpo lamelar	19
Figura 3.	Distribución de la edad (años) de las pacientes del estudio (n=103).	29
Figura 4.	Distribución de la edad gestacional de las pacientes del estudio (n=106).	29
Figura 5.	Distribución de las diferentes enfermedades	30
Figura 6.	Distribución de los cuerpos lamelares posterior a la aplicación del corticoide (n=97)*	32
Figura 7.	Distribución de los cuerpos lamelares posterior a la aplicación de una dosis de corticoide (n=46).	32
Figura 8.	Distribución de los cuerpos lamelares posterior a la aplicación de dos dosis de corticoide (n=51).	33

## RESUMEN

**TÍTULO: NÚMERO DE CUERPOS LAMELARES POR LA APLICACION DE CORTICOIDES\***

**AUTOR: LARA ALVAREZ JOSE ANTONIO\*\***

**PALABRAS CLAVES:** Cuerpos lamelares, maduración pulmonar, membrana hialina

### **DESCRIPCIÓN:**

Estudio de cohorte, retrospectivo, en el cual compara los cuerpos lamelares, en pacientes con amenaza de parto pretermino, que recibieron una o dos dosis de betametasona. Realizándose medición de los cuerpos lamelares posterior a la aplicación de betametasona, con el fin de conocer su modificación y comparando los grupos entre sí.

**MATERIALES Y METODOS.** Inicialmente se realizó la descripción de las características clínicas de la muestra obtenida. Las variables categóricas se mostraron como porcentajes y las continuas con la mediana y su recorrido, para la comparación de los grupos, expuesto a 1 dosis contra el expuesto a dos dosis de corticoides, se utilizó la prueba chi cuadrado con las variables categóricas y la prueba de Mann-Whitney.

Posteriormente, se describieron los hallazgos con respecto al número de cuerpos lamelares en los dos grupos utilizando medianas y se compararon en un análisis bivariado con la prueba de Mann-Whitney. Adicionalmente, se hicieron categorías de acuerdo a los puntos de corte reportados en la literatura y se compararon los grupos con la prueba chi cuadrado.

**RESULTADOS.** Se revisaron 106 historias clínicas de mujeres que recibieron una dosis de betametasona (n=53) o dos dosis del corticoide (n=53) antes de la amniocentesis. La mediana de edad de las madres fue de 23 años y de la edad gestacional fue 32 semanas. El 87,7% de las mujeres presentaron alguna comorbilidad. La figura 3 muestra la distribución de las diferentes enfermedades que presentaron las pacientes del estudio, la más frecuente fue la RPM, seguida del TPP, la corioamnionitis y el oligoamnios. Esta última enfermedad junto con la isoimmunización fueron más frecuente en el grupo que recibió dos dosis del corticoide ( $p=0,015$  y  $0,041$ , respectivamente).

---

\* Proyecto de Grado

\*\* Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Medicina, ALARCON NIVIA, Miguel Ángel. Otero, Juan Carlos.

## SUMMARY

**TITLE: CHANGES IN THE NUMBER OF LAMELLAR BODY FOR IMPLEMENTATION CORTICOID<sup>\*</sup>**

**AUTHOR: LARA ALVAREZ JOSE ANTONIO<sup>\*\*</sup>**

**KEY WORDS:** lamellar bodies, lung maturation, hyaline membrane

### **DESCRIPTION:**

Cohort study, retrospective, which compares the lamellar bodies in patients with threatened premature labor who received one or two doses of betamethasone. Measurements of lamellar bodies after application of betamethasone, in order of their modification and comparison groups among themselves.

**MATERIALS AND METHODS.** Initially was the description of the clinical characteristics of the sample. Categorical variables expressed as percentages and the median and continued with their journey, for comparison of groups exposed to 1 dose of exposure to two doses of corticosteroids, we used chi-square test with categorical variables and the test Mann-Whitney.

Subsequently, described the findings with respect to the number of lamellar bodies in the two groups were compared using medium and in a bivariate analysis with the Mann-Whitney test. Additionally, there were categories according to the cutoff points reported in the literature and compared the groups with chi-square test.

**RESULTS.** We reviewed medical records of 106 women who received one dose of betamethasone (n = 53) or two doses of corticosteroid (n = 53) before amniocentesis. The median age of mothers was 23 years and the gestational age was 32 weeks. 87.7% of women had a comorbidity. Figure 3 shows the distribution of the various diseases that the patients in the study showed, the RPM was the most frequent, followed by the TPP, the chorioamnionitis and oligoamnios. This last illness with isoimmunization were more frequent in the group receiving two doses of corticosteroid (p = 0.015 and 0.041, respectively).

---

<sup>\*</sup> Grade Work

<sup>\*\*</sup> University Santander's Industrial. Health Faculty of Sciences, Medicine School, ALARCON NIVIA, Miguel Ángel. Otero, Juan Carlos.

## INTRODUCCIÓN

En las gestantes con embarazo pretérmino, quienes tienen alto riesgo de ser desembrazadas de manera urgente (por trastorno hipertensivo, RPM, cáncer de cervix, cardiopatía, necesidad de extraer el feto para mejorar sus condiciones, etc), es necesaria una prueba de laboratorio que reúna las siguientes características, con el fin de establecer maduración pulmonar fetal posterior a la inducción de ésta maduración con corticoides:

- Que tenga mínimo riesgo para la paciente o para el feto
- Que sea fácil de realizar en instituciones de primer nivel en adelante (instituciones de salud rural, hospitales periféricos, puestos y centros de salud, etc).
- Que sea económico
- Que tenga un buen nivel de aproximación a la madurez o inmadurez pulmonar fetal (sensibilidad y especificidad), para facilitar al médico el momento en que deba terminar el embarazo sin riesgo para la viabilidad del recién nacido.

El conteo de los cuerpos lamelares parece llenar estos vacíos pues el proceso es fácil, puede hacerse en instituciones con pocos recursos económicos y por personas de salud con un entrenamiento rápido en la prueba.

Hay suficiente apoyo en la literatura sobre los beneficios de los corticoides en el estímulo de los neumocitos para que produzcan surfactante pulmonar (que se aprecia al microscopio aglutinado en pequeñas masas llamadas “**cuerpos lamelares**”

Esta investigación pretende hacer un aporte importante en la solución de las tres primeras preguntas. No hay suficiente soporte en la literatura científica respecto a la calidad de la respuesta en las diferentes edades gestacionales y su relación con la dosis de corticoides para producir CL. Los autores de este estudio quieren participar en la solución de este grave problema que por su magnitud es una verdadera enfermedad de salud pública, con implicaciones muy serias en la morbimortalidad perinatal, en la estructura familiar y en la economía de las instituciones públicas y privadas.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

- Cual es la dosis adecuada de corticoides para lograr la respuesta óptima (máxima producción de cuerpos lamelares- CL-)?
- Como se relacionan la dosis de corticoides y la edad gestacional respecto a la producción de CL?
- A cuanto tiempo de aplicado el corticoide, intramuscular a la gestante, hay maduración pulmonar fetal?
- Al cuanto tiempo desaparece el beneficio de la dosis de corticoide administrada en forma intramuscular a la gestante?
- De qué manera influyen las enfermedades asociadas al embarazo en la respuesta de la administración de corticoides respecto a la producción de CL?

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

Comparar el número de cuerpos lamelares en líquido amniótico de las gestantes con embarazo pretérmino que recibieron una dosis con las que recibieron dos dosis de Betametasona

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Describir las características clínicas de las gestantes incluidas en el estudio.
- Cuantificar el número de cuerpos lamelares en un grupo de fetos pretérmino que recibió una dosis (12mg) de betametasona, entre las semanas 23 y 34 de gestación.
- Cuantificar el número de cuerpos lamelares en un grupo de fetos pretérmino que recibió dos dosis (24mg) de betametasona, entre las semanas 23 y 34 de gestación.

Comparar el número de cuerpos lamelares de los fetos pretérminos que recibieron una dosis de corticoide con los que recibieron dos dosis del medicamento.

### **3. MARCO TEORICO Y ESTADO DEL ARTE**

#### ***LA MADUREZ PULMONAR Y EL SURFACTANTE PULMONAR***

El crecimiento y la maduración pulmonar están regulados por factores humorales y físicos. El estiramiento del árbol traqueo bronquial, estimula la formación de células superficiales y la maduración pulmonar mediante la formación de una matriz extracélular que se expresa de acuerdo a los mensajes genéticos relacionados con la histofisiología alveolar.

En éste proceso de la formación del árbol broncoalveolar intervienen factores que actúan como mecano-transductores de los mensajes del código genético y de las moléculas que le sirven de expresión.

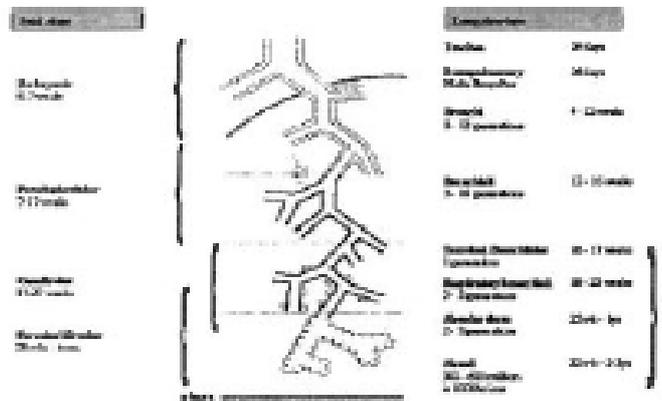
El surfactante es un conjunto de sustancias secretadas por los neumocitos a la luz alveolar, cuya principal función es disminuir la tensión superficial para facilitar el despegamiento de las caras opuestas de los alvéolos, facilitar la entrada del aire y con él, realizar la función de intercambio gaseoso. La presencia de surfactante, disminuye el esfuerzo respiratorio, impide el colapso de los alvéolos, favorece un volumen de aire residual en el conjunto de alvéolos, disminuye la presión negativa transpulmonar e impide el edema pulmonar que se presenta cuando se aumenta la congestión vascular por la barrera hemato-aerea.

Desde el punto de vista bioquímico, el surfactante muestra en su composición un predominio de los fosfolípidos que constituye el 85%, proteínas el 13% y carbohidratos y ácidos nucleicos el 2%. Los fosfolípidos más importantes son la esfingomielina, el fosfatidil glicerol, la dipalmitoil lecitina y el dipalmitoil fosfatidil glicerol. El surfactante previene el colapso de las cavidades alveolares en el

pulmón de bajo volumen y preserva la permeabilidad de la luz broncoalveolar durante la ventilación normal y forzada (función biofísica). También participa en los mecanismos protectores que impiden la lesión pulmonar por sustancias o microorganismos inhalados (función no biofísica o inmunológica). Algunas enfermedades alteran esta función del surfactante: la deficiencia congénita de proteína B, asma, bronquitis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedades infecciosas y enfermedades supurativas (fibrosis quística, neumonía, sida), síndrome de distres respiratorio del adulto, edema pulmonar, etc.) El futuro del tratamiento de estas enfermedades, incluirá el reemplazo del surfactante.

La primera apreciación de la presencia de surfactante parece deberse a Patte, quien lo mencionó en 1955. Este hallazgo le sirvió a Avery y Mead, en 1959 para correlacionar la insuficiencia respiratoria con la deficiencia de surfactante. En los años 50, Buckingham, fue el primero en mencionar que los corticoides pueden tener un efecto en la maduración pulmonar, sin embargo, fue Liggins, quien notó, en un estudio en ovejas, que la aplicación de corticoides antenatal, los hacía viables antes del término, realizando la hipótesis de que la aplicación de corticoides antenatal, aceleraba el desarrollo pulmonar fetal, confirmado por posteriores estudios, el primero de ellos, en 1972, en donde encuentra una disminución del SDR del 25,8% al 9%, pero lo más impactante fue la disminución de la mortalidad del 15% al 3,2%, lo que ha sido corroborado por posteriores estudios.

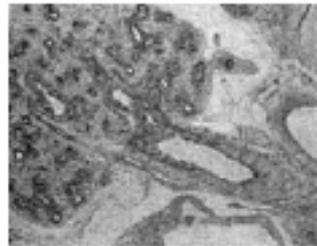
Como consecuencia de estos avances se ha logrado prevenir en gran medida la membrana hialina con aplicación oportuna de glucocorticoides y hormona tiroidea, durante la vida fetal, en fetos con amenaza de parto prematuro o la aplicación de surfactante en los recién nacidos con falla respiratoria por prematuridad.



**PSEUDOGLANDULAR PERIOD**

(7-17 Weeks)

- Rapid branching
- Airways lined by columnar epithelial cells
- Appearance of cartilage, lymphatics, mucous glands and muscle cells from 10 weeks
- Terminal bronchiole present by 17 weeks



At 10 week gestation

Kellie Murphy, MD, Mount Sinai Hospital CLINICAL OBSTETRICS AND GYNECOLOGY / VOLUME 46 / NUMBER 1 / MARCH 2003

Desarrollo pulmonar:

Puede ser descrito en cuatro fases:

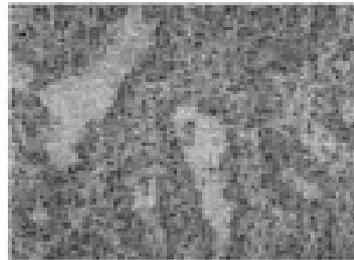
Pseudo glandular: que va desde la vida embrionaria, hasta las 17 semanas de vida fetal, en donde se forman los bronquios, bronquiolos primarios y secundarios, con una capa de células, columnar en su parte proximal y cuboidal en su porción distal, en donde se encuentran las células precursoras de los neumocitos tipo 2

La fase canalicular se extiende desde las 13 a la 25 semanas de edad gestacional y se caracteriza por canalización o invasión del epitelio cuboidal por capilares y por la formación de la unidad respiratoria llamada acino, apareciendo las células tipo 2, iniciando la viabilidad fetal.

**CANALICULAR PERIOD**

(17-27 weeks)

- Development of terminal bronchioles, respiratory bronchioles and small alveolar sacs (= Acinus)
- Thinning of mesodermal tissues and peripheral epithelial cells
- Differentiation of  
**Type I pneumocytes** (for gas exchange)  
**Type II pneumocytes** (for surfactant production)

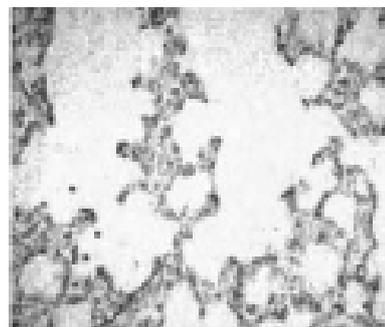


La fase de saco terminal se extiende desde la semana 24 hasta después del nacimiento, caracterizado por el desarrollo de sacos y el epitelio respiratorio lineal compuesto por neumocitos tipo 1 y tipo 2 Figura 2.

• **Saccular period**

(27-36 weeks)

- Enlargement of peripheral airways
- Further differentiation of pneumocytes



At 34 week gestation

La fase alveolar inicia a las 29 semanas de edad gestacional y se extiende hasta la vida postnatal y se caracteriza por el desarrollo del alveolo.

Por lo anterior, las investigaciones sobre la presencia de surfactante pulmonar en el líquido amniótico debe realizarse con fetos de 28 semana o más, pues solo es detectable en ese fluido a partir de la semana 28 a 32.

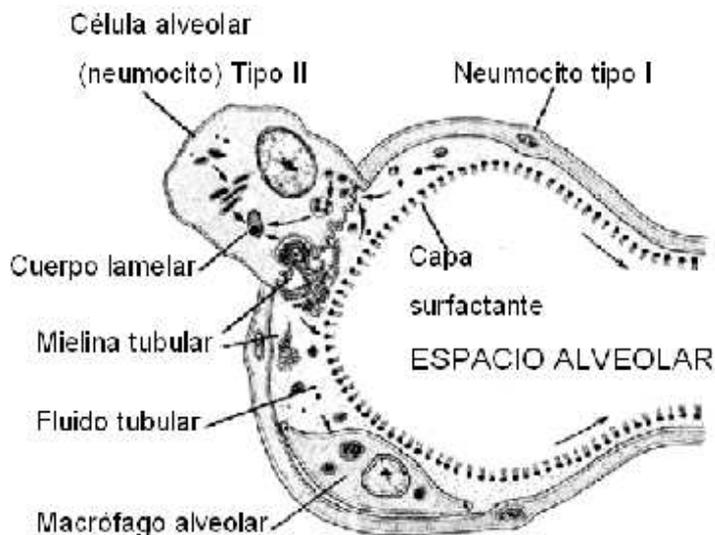


Figura 1. Esquema de un alvéolo y su estructura histológica

**LOS GLUCOCORTICOIDES:** Los estudios en animales mostraron la influencia de los corticoides en la producción de fosfolípidos en la luz alveolar de conejos, ovejas, monos y ratas. La demostración de la mayor producción de surfactante pulmonar por parte de los neumocitos tipo II, condujo a su utilización en fetos humanos. Las investigaciones de numerosos perinatólogos, fisiólogos, patólogos, pediatras y obstetras han demostrado ampliamente el beneficio de este fármaco sobre los pulmones fetales.

Una de las causas frecuentes de suponer prematuramente el embarazo es la hipertensión de la madre, ya sea hipertensión transitoria, preeclampsia o por eclampsia. Se tenía temor a la aplicación de corticoides en estas pacientes luego que Liggins y Howie en 1972 previnieran a cerca de su uso en este tipo de

gestantes, sin embargo los estudios posteriores permitieron que el Consensus Conference of the National Institutes of Health estableciera que la hipertensión no es una contraindicación de la aplicación de corticoides para la maduración pulmonar.

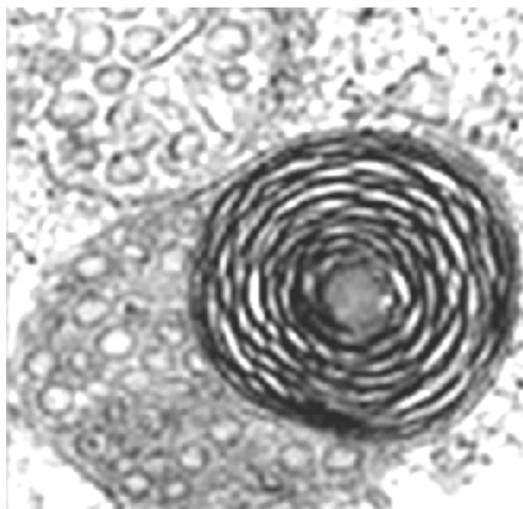


Figura 2. Ultra microfotografía De un cuerpo lamelar

El incremento del número de cuerpos lamelares bajo la influencia de los corticoides fue estudiado por Piazze y colaboradores en una investigación de cohortes con asignación no aleatorizada publicada en agosto del año 1998. En promedio obtuvieron 19.600 cuerpos lamelares (por microlitro) en 34 hipertensas no tratadas con corticoides, y 23.000 cuerpos lamelares (por microlitro) en 34

hipertensas que recibieron 24 mg de betametasona antes del nacimiento. En los 68 pacientes de control (gestantes con embarazo normal) el promedio de cuerpos lamelares fue de 39.800 por microlitro.

**DIAGNOSTICO CON LA MADUREZ PULMONAR.** Los métodos diagnósticos con mayor solidez a través del tiempo han sido el test de Clements (hoy en desuso), el radio lecitina/esfingomieline y la cuantificación de los cuerpos lamelares. Este

último se perfila como la prueba de mayor aceptación por su facilidad, sensibilidad y precio. Otras pruebas con menor aceptación han sido radio surfactante/ albúmina<sup>20</sup>, la medición del fosfatidil glicerol<sup>20</sup> y el análisis del líquido amniótico por fluorescencia.

**EL TEST DE CLEMENTS.** Esta prueba económica, sencilla y rápida diseñada por Clements; consiste en la estabilidad de las burbujas que se forman al agitar el líquido amniótico en un tubo que contiene etanol, que se ha colocado allí con el fin de evitar la formación de espuma proveniente de proteínas y ácidos grasos diferentes a los que componen el surfactante pulmonar normal. Desafortunadamente la lectura de la prueba es muy subjetiva y está sujeta a variaciones relacionadas con la limpieza de los tubos, la cantidad de LA y etanol, la temperatura del ambiente, etc. Su valor predictivo positivo es alto 0,99 -1,0 pero su valor predictivo negativo es bajo: 0,04-0,6. Esto Significa que un resultado positivo es muy confiable, pero un resultado negativo deja muchas dudas, pues con alguna frecuencia corresponde a falsos negativos.<sup>7</sup>

**EL RADIO LECITINA/ESFINGOMIELINA:** Antes del desarrollo de la ecografía se realizaban muchas cesáreas en maternas con cesárea previa por la norma difundida de "paciente con cesárea, repetir la cesárea", esta se convirtió en una forma de morbilidad del recién nacido prematuro por el Síndrome de membrana hialina hasta que en 1971 Gluck, Kulovich, Borre y Col. introdujeron la prueba del Radio de Lecitina/Esfingomielina en líquido amniótico para predecir la madurez pulmonar del feto. Se considera que el líquido amniótico tiene cantidad surfactante suficiente para garantizar la madurez pulmonar cuando el radio L/E es igual o superior a 2. El L/E se basa en el principio de que el surfactante es rico en fosfolípidos y que el líquido amniótico maduro tiene alta concentración de Lecitina. Desafortunadamente el diagnóstico a través del radio L/E no es fácil, requiere de centrifugación, extracción, cromatografía de capa fina y lectura mediante absorciometría. Una prueba con éstas características es exigente, tediosa y

lenta. Sin embargo ha sido utilizada ampliamente por numerosos investigadores que la han tomado como patrón comparativo con otras formas de diagnóstico.<sup>12</sup>

**MEDICION DE LA FLUORESCENCIA:** Otra técnica ha sido la observación de la disminución de la Fluorescencia por polarización del líquido amniótico a medida que madura. Esta observación se relaciona con el número de cuerpos lamelares.<sup>12</sup> La lectura fosfatidilglicerol, propuesta por Hallman en 1976, mostró una gran especificidad pero una pobre sensibilidad.<sup>7</sup>

**LA LECTURA DE CUERPOS LAMELARES:** Los cuerpos lamelares son corpúsculos de 1 a 5 micrómetros de diámetro formado capa por capa de proteínas y fosfolípidos. Corresponde a los gránulos secretorios de los neumocitos tipo II. La forma de disco que tienen las plaquetas y el diámetro (de dos a cuatro micras), las hacen morfológicamente muy similares a la vista y a la percepción de los contadores automáticos de cuerpos lamelares.<sup>5-7</sup>

Desde hace mucho tiempo los clínicos dedicados a la obstetricia y a la perinatología han buscado un método eficaz, económico, rápido para identificar el grado de madurez fetal, libre de riesgos para la madre y el feto, especialmente en los casos en los cuales se pueden contemporizar el embarazo para acelerar la maduración pulmonar mediante la aplicación de corticoides a la gestante. El conteo de los cuerpos lamelares en líquido amniótico parece cumplir con esas premisas pues una vez tomada la muestra por una persona experta su análisis es rápido, económico y sensible.<sup>5-7,12-13,15—21,26--29.</sup>

Por primera vez en 1989 S.B. Duben describió éste método de lectura de los cuerpos lamelares como si fueran plaquetas y desde entonces numerosos investigadores han utilizado su método para cuantificarlos. Los patrones de comparación más frecuentes han sido el radio Lecitina/Esfingomielina (LE) y la medición del fosfatidilglicerol (FG).<sup>12-13-15</sup>

**Tabla 1. Punto de corte en el conteo de cuerpos lamelares**

<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>No. de CL /microlitro</b>
Pearlman <sup>12</sup>	1991	19.000
Ashwood <sup>15</sup>	1993	55.000
Fakhoury <sup>16</sup>	1994	30.000
Greespoon <sup>18</sup>	1995	46.000
Dalence <sup>17</sup>	1995	30.000
Lee <sup>19</sup>	1996	50.000
Carrillo <sup>21</sup>	1997	30.000
Piazzè <sup>24</sup>	1998	39.000
Osma, Becerra, Alarcón	1998	20.000
Lewis <sup>27</sup>	1999	32.000
Nerhof <sup>29</sup>	2001	50.000

Los valores de punto de corte (columna 3) encontrados por los autores mencionados, corresponden al número de CL a partir del cual la mayor parte de los recién nacidos pueden respirar normalmente, como prueba de madurez pulmonar.

El estudio de Aswood en 1993 comparó el conteo de los cuerpos lamelares con el radio L/E, con la medición del FG y con la polarización del líquido amniótico por fluorescencia. El contador de cuerpos lamelares fue calibrado para lectura de corpúsculos con un tamaño de 1,7 a 7,3 fL. La cantidad de cuerpos lamelares varió entre 3,800 y 166.000 partículas por microlitro y se correlacionaron fuertemente con el radio L/E (R:0,75) y con la polarización por fluorescencia (R:0,78). El mismo autor<sup>15</sup> publicó los resultados de otro estudio tres años después con 247 neonatos, para comparar el conteo de CL en relación con el síndrome de dificultad respiratoria. Todos los recién nacidos que desarrollaron dificultad respiratoria (n=28) tenían 55.000 o menos CL por microlitro y el radio L/E era de 2,2 o menos; el 59% de los neonatos sin dificultad respiratoria tenían más de 55.000 C/L por microlitro y el radio L/E era mayor de 2,2 en el 70% de los

casos Concluyó que era más confiable el estudio del radio L/E. Los valores entre 10.000 y 30.000 fueron interpretados como de riesgo intermedio.

Los cuerpo lamelares se mantienen estables hasta por 10 días, si se mantienen a 4 grados centígrados con una variación +/- del 11%. El almacenamiento mayor a este tiempo del 1% en el líquido amniótico, aumenta erróneamente el conteo del CL<sup>11</sup> Dalence<sup>17</sup> califica el conteo de los CL como rápido, objetivo, que requiere poca cantidad de LA, y de disponibilidad universal para su lectura.

El estudio de J. Henderson y Smart mostró que el uso de los corticoides antes de las 35 semanas produce un aumento del número de cuerpos iniciales pero luego el recuento vuelve a la línea de base. Por esto advertía en 1981 que se estudiara con mayor cuidado el beneficio real de los corticoides para maduración.

## **4. METODOLOGIA PROPUESTA**

### **4.1 TIPO DE ESTUDIO**

Estudio observacional analítico de cohorte retrospectiva.

### **4.2 POBLACIÓN A ESTUDIO.**

Gestantes que consultaron al Hospital Universitario de Santander o la clínica Materno Infantil San Luis, con edad gestacional de 23 - 34 semanas y que presentaban alguna condición que requiriera aplicación de corticoide para maduración pulmonar fetal debido a la posibilidad de suspensión del embarazo antes de llegar al término.

### **4.3 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO.**

Criterio de inclusión:

- Maternas de cualquier edad
- Con embarazo único o múltiple
- Con embarazo de 23 a 34 semanas de gestación
- Con un trastorno de su embarazo que obligó la uso de corticoides ante la alta posibilidad de un parto pretérmino.
- Con conteo de cuerpos lamelares en líquido amniótico tomado por amniocentesis después de haber recibido una o dos dosis de betametasona.

Criterio de exclusión:

- Pacientes cuyo líquido amniótico se hubiese contaminado con sangre o meconio durante la amniocentesis.

#### **4.4 TAMAÑO DE MUESTRA:**

Mediante el programa “\_sample size” (sampsi) de Stata, con un rango de 20.000 a 40.000 de cuerpos lamelares (obtenidos por Piazze), con una desviación Standard de 25.000 para cada grupo (dos grupos, uno de una sola dosis y otro de dos dosis de betametasona), un valor alfa del 5% y un poder deseado del 90%.

#### **SAMPSI 20 40,SD1 (25) P (0.9)**

Alpha 0.05

Power 0.9

M1= 20

M2=40

Sd1=25

Sd2=25

N2-n1=1.0

Estimated required sample sizes:

**N1=53**

**N2=53**

Por lo tanto se requieren 53 pacientes por grupo. Total 106 pacientes

#### **4.5 RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN**

Se buscaron historias clínicas de gestantes con embarazo de 23 a 34 semanas que habían recibido betametasona antes de la amniocentesis (Una sola dosis de 12 mg o Dos dosis de 12 mg cada una) y se recogieron en un formato estándar las

variables de edad materna, edad gestacional, morbilidad materna, dosis de corticoides entre otras (Anexo1).

A estas mujeres, después de la aplicación de la betametasona, se les había tomado por amniocentesis 3ml de líquido amniótico para la medición de cuerpos lamelares. Este procedimiento fue realizado por uno de los perinatólogos del servicio, mediante punción suprapúbica guiada por el ecógrafo para disminuir el riesgo inherente al procedimiento.

El líquido amniótico se llevó directamente al laboratorio. La muestra del líquido amniótico se leyó en el laboratorio del hospital, o de la clínica San Luis, por las bacteriólogas entrenadas para tal efecto, mediante el uso de un contador celular que leía los cuerpos lamelares como si fueran plaquetas.

Todos los datos recogidos fueron registrados en una base hecha en Epi Info 6.0 . Se realizó doble digitación y posteriormente se compararon las bases con la opción Validate. La información fue analizada con el paquete estadístico STATA SE 9,2.

#### **4.6 TÉCNICA DE LABORATORIO PARA CUANTIFICAR LOS CUERPOS LAMELARES:**

Almacenamiento de la muestra a examinar:

- La muestra fue examinada lo más pronto posible, en fresco
- Técnica en el laboratorio:
  - Se homogenizó la muestra de líquido amniótico. Se coloca una alícuota en un tubo de 12 x75 mm.
  - Se centrifugó durante 3 minutos a 500 gravedades, para remover el detritus celular.

NOTA: Aunque los perinatólogos de la Universidad de Northwestern, Illinois opinan que en la actualidad no es necesario centrifugar el líquido amniótico (LA.), la muestra de LA fue centrifugada a 3000 rpm durante 3 minutos para facilitar la lectura pues este procedimiento precipita los detritus celulares que puedan simular CL. La centrifugación de el LA no altera el conteo de los CL.

- El sobrenadante se decantó en otro tubo estéril.
- Se analizó la muestra en un lector electrónico hematológico, dos a tres veces, como si se estuvieran leyendo plaquetas.
- Puesto que las lecturas varían (con una variación aceptable menor del 5%), se promedió el resultado para informar un valor absoluto de cuerpos lamelares por  $\text{mm}^3$ .
- Cuando existió dificultad en la lectura electrónica de los cuerpos lamelares, fueron leídos con un microscopio de luz, con la técnica tradicional, utilizada para cuantificar plaquetas.

## 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Inicialmente se realizó la descripción de las características clínicas de la muestra obtenida. Las variables categóricas se mostraron como porcentajes y las continuas con la mediana y su recorrido. Además, para la comparación de los grupos, expuesto a 1 dosis contra el expuesto a dos dosis de corticoides, se utilizó la prueba chi cuadrado con las variables categóricas y la prueba de Mann-Whitney cuando se compararon las variables continuas, porque éstas últimas no presentaron distribución normal. Se consideraron variables no distribuidas equilibradamente cuando la p fue  $>0,05$  al hacer la comparación entre grupos.

Posteriormente, se describieron los hallazgos con respecto al número de cuerpos lamerales en los dos grupos utilizando medianas y se compararon en un análisis bivariado con la prueba de Mann-Whitney. Adicionalmente, se hicieron categorías de acuerdo a los puntos de corte reportados en la literatura y se compararon los grupos con la prueba chi cuadrado. Finalmente, se realizó un análisis multivariado de regresión binomial con el fin de ajustar por las variables distribuidas de forma diferencial entre los grupos.

**ASPECTOS ÉTICOS DEL ESTUDIO:** De acuerdo a la resolución 008430 del MinSalud, este estudio es una investigación sin riesgo, debido a que se recolectó información de las historias clínicas de las pacientes en forma retrospectiva, no se requirió tener contacto directo con las pacientes.

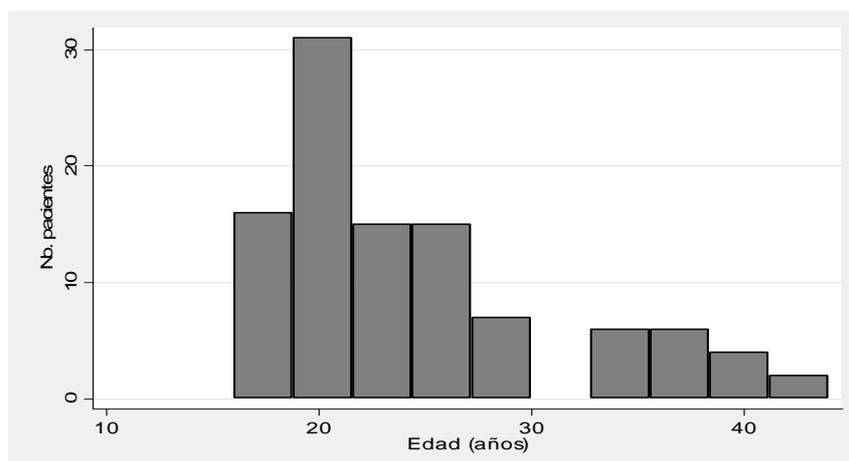
Para respetar el derecho a la confidencialidad, el investigador presentó la información en forma de medianas y porcentajes y en ningún caso identificó a ninguna paciente con el nombre propio. Esta propuesta fue llevada al Comité de Ética de la Facultad de Salud, donde fue aprobada en sesión del año 2003.

## 6. RESULTADOS

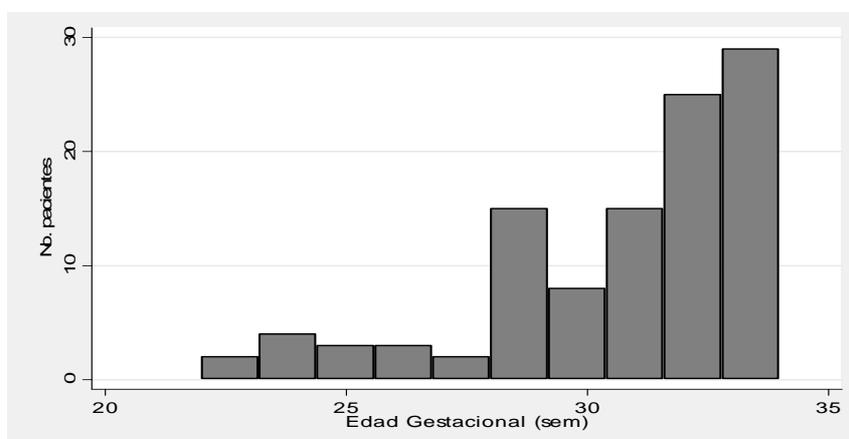
### CARACTERÍSTICAS GENERALES

Se revisaron 106 historias clínicas de mujeres que recibieron una dosis de betametasona (n=53) o dos dosis del corticoide (n=53) antes de la amniocentesis. La mediana de edad de las madres fue de 23 años y de la edad gestacional fue 32 semanas (Tabla 3, Figura 1 y 2).

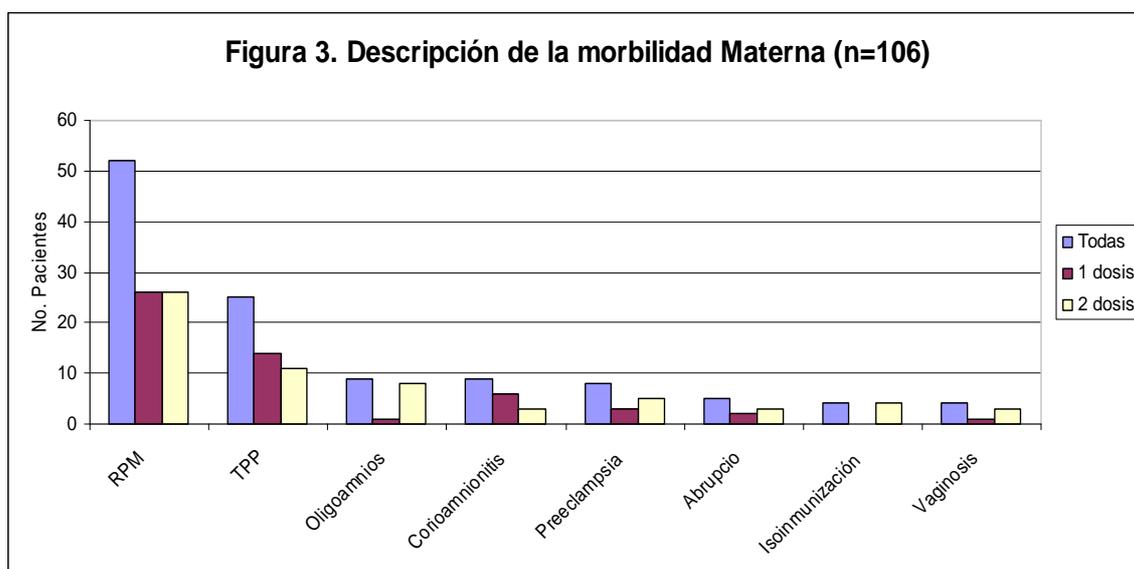
**Figura 3. Distribución de la edad (años) de las pacientes del estudio (n=103).**



**Figura 4. Distribución de la edad gestacional de las pacientes del estudio (n=106).**



El 87,7% de las mujeres presentaron alguna comorbilidad. La figura 5 muestra la distribución de las diferentes enfermedades que presentaron las pacientes del estudio, la más frecuente fue la RPM, seguida del TPP, la corioamnionitis y el oligoamnios. Esta última enfermedad junto con la isoimmunización fueron más frecuente en el grupo que recibió dos dosis del corticoide ( $p=0,015$  y  $0,041$ , respectivamente).



Al comparar los grupos se encontró que el porcentaje de mujeres sin comorbilidad fue mayor en el grupo que recibió una dosis, en tanto que el porcentaje de las que presentaron 2 o 3 comorbilidades simultáneamente fue mayor en el grupo tratado con dos dosis del medicamento (Tabla 2).

En general, la ecografía de segundo o tercer trimestre fue el método más utilizado para calcular la edad gestacional (Tabla 2), especialmente en el grupo que recibió dos dosis de betametasona, pues en el grupo de 1 sola dosis el porcentaje de pacientes a quien se les determinó la edad gestacional por ecografía del primer trimestre fue similar al porcentaje de las aquellas a quienes se les hizo el diagnóstico de la edad gestacional con ecografía.

En cuanto al número de fetos por embarazo no hubo diferencia entre el grupo de las que recibieron una o dosis del corticoide. Al considerar la variable horas transcurridas entre el momento de la aplicación del medicamento y la amniocentesis, se observó que la mediana del tiempo transcurrido desde la última aplicación hasta el procedimientos fue estadísticamente mayor en el grupo de dos dosis (Tabla 2).

**Tabla 2. Características clínicas de las pacientes incluidas en el estudio.**

<b>Característica</b>	<b>Total (n=106)</b>	<b>Una dosis (n=53)</b>	<b>Dos Dosis (n=53)</b>	<b>Valor p</b>
<b>Edad Materna en años</b>				
Mediana (Recorrido)	23 (16 - 44)	21 (16 - 41)	23 (17 - 44)	0,88*
<b>Edad gestacional en semanas</b>				
Mediana (Recorrido)	32 (23 - 34)	31 (23 - 34)	32 (24 - 34)	0,72*
<b>Comorbilidad</b>				
Ninguna n (%)	13 (12,3)	11 (20,8)	2 (3,8)	0,039†
Una comorbilidad	71 (73,6)	32 (60,4)	39 (73,6)	
Dos comorbilidades	21 (19,8)	9 (17)	12 (22,6)	
Tres comorbilidades	1 (0,9)	1 (1,9)	0	
<b>Método de confirmación de EG‡</b>				
Ecografía 1 trimestre n (%)	22 (22)	17 (36,2)	5 (9,4)	0,000†
Ecografía 2 y 3 trimestres	57 (57)	16 (34)	41 (77,4)	
Ecografía 3 nivel	17 (17)	12 (25,6)	5 (9,4)	
Por FUR	4 (4)	2 (4,3)	2 (3,8)	
<b>Embarazo</b>				
Único n	79	37	42	0,51†
Gemelar	3	2	1	
Triple	1	0	1	
<b>Horas entre la última dosis de corticoide y la amniocentesis</b>				
Mediana (recorrido)	24 (3-98)	24 (4 - 96)	48 (3-98)	0,0019*

\*Test Mann-Whitney.

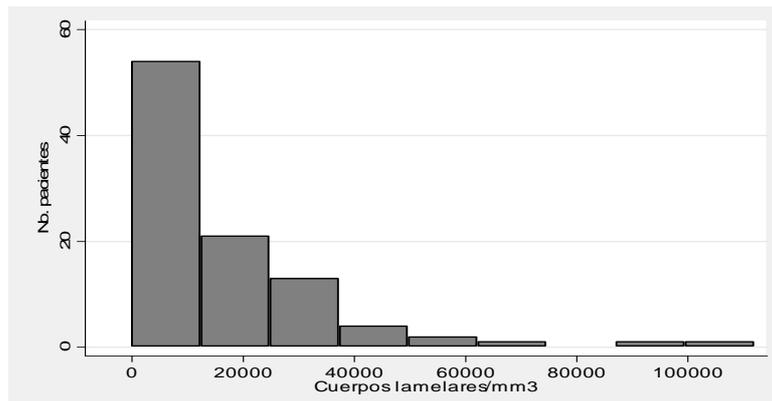
†Chi<sup>2</sup>

‡n=100, 47 dosis única y 53 dos dosis.

**Cuerpos lamelares posteriores a la aplicación del medicamento.** En la figura 4 se muestra la distribución de la cantidad de cuerpos lamelares en líquido amniótico tomado posterior a la aplicación del corticoide, se encontró una mediana

de 10.000 CL/mm<sup>3</sup>, un valor mínimo de 0 en 7 pacientes (6,8%) y un valor máximo de 396.000CL/mm<sup>3</sup> en 1 paciente (1%) (Tabla 4).

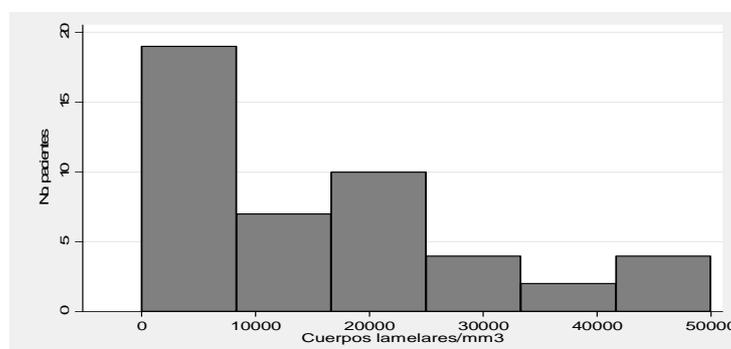
**Figura 6. Distribución de los cuerpos lamelares posterior a la aplicación del corticoide (n=97)\***



\*Se excluyeron del gráfico (no del estudio) 6 pacientes con valores extremos (2 de 160.000 CL/mm<sup>3</sup>, 1 de 182.000, de 193.000, de 210.000 y de 396.000 CL/mm<sup>3</sup>).

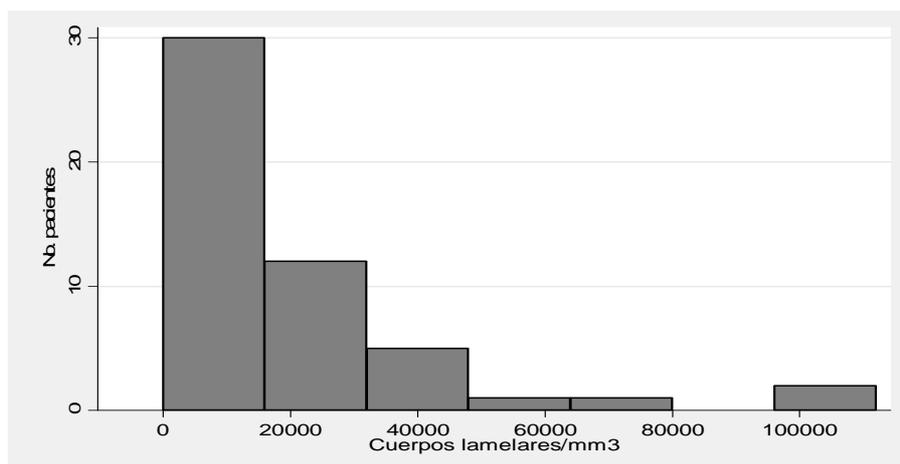
En este grupo de pacientes los cuerpos lamelares no mostraron tendencia lineal con respecto a la edad gestacional (R<sup>2</sup> de 0,0030) (Figura 5) ni con la edad materna (R<sup>2</sup> de 0,0030).

**Figura 7. Distribución de los cuerpos lamelares posterior a la aplicación de una dosis de corticoide (n=46)\***



Pacientes con cuerpos lamelares menores a 120.000/mm<sup>3</sup>

**Figura 8. Distribución de los cuerpos lamelares posterior a la aplicación de dos dosis de corticoide (n=51)\***



Pacientes con cuerpos lamelares menores a 120.000/mm<sup>3</sup>

**Comparación de cuerpos lamelares entre los grupos que recibieron una o dos dosis del corticoide.**

No se observaron diferencias significativas en la cantidad de cuerpos de lamelares de las pacientes que recibieron una dosis con respecto a las que recibieron dos dosis (Tabla 4, Figura 6).

Al considerar maduración pulmonar como presencia de más de 30.000CL/mm<sup>3</sup> o más de 55.000CL/mm<sup>3</sup>, tampoco se encontraron diferencias entre estos grupos de tratamiento. Adicionalmente, de acuerdo a la literatura se hicieron 4 categorías de riesgo, pero tampoco se encontraron diferencias entre las pacientes que recibieron una dosis y aquellas que recibieron dos dosis de corticoide (Tabla 3).

**Tabla 3. Cuerpos lamelares en líquido amniótico posterior a la aplicación del corticoide. Análisis Bivariado.**

Desenlaces	Total (n=103)	Una dosis (n=50)	Dos Dosis (n=53)	Valor p
Cuerpos lamelares/mm <sup>3</sup>				
Mediana (Recorrido)	10.000 (0 – 396.000)	13.000 (0 - 210.000)	10.000 (0 – 396.000)	0,31*
Maduración pulmonar (≥30.000CL/mm <sup>3</sup> ) n (%)	25 (24,3)	13 (26)	12 (22,6)	0,69†
Maduración pulmonar (CL ≥55.000/mm <sup>3</sup> ) n (%)	9 (8,7)	4(8)	5(9,4)	0,79†
<b>Clasificación por grupos de riesgo</b> n (%)				
<10.000 CL/mm <sup>3</sup>	42 (40,8)	19 (38)	23 (43,4)	0,92†
10.000 – 30.000 CL/mm <sup>3</sup>	39 (37,9)	20 (40)	19 (35,9)	
>30.000 - <55.000 CL/mm <sup>3</sup>	11 (10,7)	6 (12)	5 (9,4)	
≥55.000 CL/mm <sup>3</sup>	11(10,7)	5 (10)	6 (11,3)	

\*Test Mann-Whitney.

†Chi<sup>2</sup>

Al realizar un análisis de regresión binomial ajustado por las variables que quedaron distribuidas en forma diferencial entre los grupos no se observó diferencias entre los grupos cuando el punto de corte fue  $\geq 30.000 \text{ CL/mm}^3$  (RRa 0,98, IC 95% 0,36 - 2.63,  $p=0,96$ ) ni cuando fue  $\geq 55.000 \text{ CL/mm}^3$  (RRa 2,67 IC 95% 0,22 – 32,59,  $p=0,44$ ).

Al categorizar la variable en los cuatro grupos de riesgo y ajustar por las variables edad gestacional, edad materna y morbilidad haber recibido una o dos dosis no se relacionó con este resultado (Ver anexo 2. Salida de Stata). Solamente se observó relación entre la edad gestacional y el grupo  $>30.000 - <55.000 \text{ CL/mm}^3$  (RRa 1,57 IC 95% 1,05 – 2,37,  $p=0,030$ ).

## 7. DISCUSIÓN

**Tabla 4. Cuerpos lamelares antes y después del uso de corticoides.**

Edad gestacional	Cuerpos lamelares basales <sup>41</sup>	Cuerpos lamelares post-corticoide		
		Mediana	Mínimo	máximo
<28 sem(n=14)	0	10000	2000	160000
28 sem (n=10)	5000	2000	500	37000
29 sem (n=5)	10000	5000	2000	17000
30 sem (n=8)	15000	7500	5000	23000
31 sem (n=15)	20000	8000	2000	24000
32 sem (n=25)	25000	15000	2000	396000
33 sem (n=13)	30000	21000	2000	72000
34 sem (n=16)	35000	27000	2000	193000

Cantidad de cuerpos lamelares estimados para la edad gestacional.

Como podemos observar en la anterior tabla, a partir de la semana 28 de vida intrauterina, se produce un incremento lineal del recuento de cuerpos lamelares, lo cual se encuentra acorde con lo revisado en la literatura mundial, sin embargo, su número se encuentra ligeramente disminuido, lo que hace pensar en que en el resultado final de la disminución de SDR en el RN se pueden encontrar involucrados otros factores fisicoquímicos, los cuales no se estudian en la presente investigación.

Teniendo en cuenta lo anterior, se realiza la comparación entre los cuerpos lamelares entre las diferentes semanas de edad gestacional, con una o dos dosis de corticoide, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas, lo que podría deberse a tamaño de la muestra o al tiempo de realizado la amniocentesis.

**Tabla 5. Comparación entre los Cuerpos lamelares**

<b>Semana de Gestación</b>	<b>N 41 1 dosis</b>	<b>N 44 2 dosis</b>	<b>1 dosis</b>	<b>2 dosis</b>	<b>p*</b>
28 mediana (Mínimo – máximo)	3	6	24.000 (0-37000)	1000 (0-6000)	0,2 2
30	6	2	8000 (5000-23000)	5000 (5000-5000)	0,0 8
31	9	6	8000 (2000-24000)	11000 (0-17000)	0,6 3
32	9	16	8000 (2000-210000)	16000 (2000-396000)	0,3 2
33	4	8	37000 (2000-44000)	21000 (2000-72000)	0,4 4
34	10	6	28500 (2000-193000)	24000 (10000-36000)	0,4 8

Prueba de Mann-Whitney

**Tabla 6. Cuerpos lamelares con respecto a la edad gestacional y la dosis de corticoide.**

<b>Edad gestacional Sem (n)</b>	<b>Cuerpos lamelares basales*</b>	<b>Post- corticoides Mediana (min- max)</b>	<b>Una dosis Mediana (min- max)</b>	<b>Dos dosis Mediana (min- max)</b>
<28 (8 vs 6)	0	10000 (2000 – 160000)	10000 (3000 - 16000)	17500 (2000 – 160000)
28 (3 vs 6)	5000	2000 (0 - 37000)	24000 (0 – 37000)	1000 (0 – 6000)
29 (1 vs 3)	10000	500 (0 – 17000)	17000	0 (0 – 1000)
30 (6 vs 2)	15000	7500 (5000 – 23000)	8000 (5000 – 23000)	5000
31 (9 vs 6)	20000	8000 (2000 – 24000)	8000 (2000 – 24000)	11000 (0 – 17000)
32 (9 vs 16)	25000	15000 (2000 – 396000)	8000 (2000 – 210000)	16000 (2000 – 396000)
33 (4 vs 8)	30000	21000 (2000 – 72000)	37000 (2000 – 44000)	21000 (2000 – 72000)
34 (10 vs 16)	35000	27000 (2000 – 193000)	28500 (2000 - 193000)	24000 (10000 - 36000)

\*Cantidad de cuerpos lamelares estimados para la edad gestacional.

Al comparar la cantidad de cuerpos lamelares hallados con una y dos dosis de corticoide contra los informados por la literatura mundial, encontramos que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes edades gestacionales, observándose un comportamiento similar aunque manteniéndose en niveles ligeramente inferiores, produciéndose una caída entre 28-29 semanas, pudiendo deberse a múltiples factores, lo que hace recomendable continuar el estudio, con el fin de tratar de esclarecer las innumerables interrogantes aun planteadas entre las que se encuentran el intervalo entre la dosis óptima y el parto, el uso óptimo de corticosteroides, los efectos en los embarazos múltiples y la confirmación de los efectos a largo plazo en la adultez<sup>23</sup>

## 8. RECOMENDACIONES

### **Resumen de las recomendaciones de la reunión de consenso del NIH -1994.**

El uso de corticoides antenatal para inducir la maduración pulmonar fetal estaría recomendado en :

- Todos los embarazos entre 24 y 34 semanas con riesgo de parto prematuro son candidatos.
- La decisión no debe basarse en el sexo o raza fetal como tampoco en la disponibilidad del surfactante.
- Pacientes candidatas a tocolíticos deben ser también candidatas a corticoides.
- Usar corticoide a menos que el parto sea inminente.
- Considerar el uso de corticoides con rotura prematura de membranas en embarazos menores de 30 semanas

### **LIMITACIONES**

Que el estudio no evaluó la dificultad respiratoria RN

La ausencia de diferencias podría deberse a un problema de poder (tamaño de muestra)

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Murphy K., Aghajafari F., Single versus repetitive courses of corticosteroids: what do we know?. *Clinical Obstetrics and Gynecology* Vol. 46 Number 1-2003
2. 1981 Anderer M. Graabow HJ, Schindler AE. Determination of fetal lung maturity using the Shake Test by Clements and the L ratio. *Fortschr Med* 1981 Jun 25; 99 (24):959-63
3. 1981 Beck JC. Johnson JW. Mitzner W. Lee PA, London WT. Sly DL. Glucorticoids, hyperinsulinemia and fetal lung maturation. *Am J Obstet Gynecol.* 1981 Feb 15; 139 (4):465-70
4. Corticosteroides prenatales para acelerar la maduración pulmonar fetal en mujeres con riesgo de parto prematuro (Revisión) Roberts D, Dalziel S, publicada en *The Cochrane Library* 2007 Issue 4
5. 1984 Zsonai B, Gyevai A. Induction of lamellar body synthesis by corticosteroids in first-trimester human fetal lungs. *Gynecol Obstet Invest* 1984; 1984 17 (5): 258-64
6. 1982 Szabo I, Drozgyik I, Novak P, Csaba I, The effects of glucocorticoid treatment during pregnancy on lecithin synthesis in the rat lung. *Z. Gebirtshilfe Perinatolo* 1982 Feb; feb (1): 31-36
7. 1984 Cavalieri RL, Woodling S. Purification of lamellar bodies from human amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1984 Oct 15; 150 (4):409-14
8. 1990 Ashwood ER, Oldroyd RG, Palmer SE. Measuring the number of lamellar body particles in amniotic fluid. *Obstet Gynecol* 1990 Feb; 75(2): 289-92
9. 1991 Peartman ES, Baiocchi JM, Lease JA, Gilbert J, Cooper JH. Utility of rapid lamellar count in the assessment of fetal maturity. *Am J Clin Pathol* 1991 Jun; 95(6) : 778-80

10. 1994 Kafhoury G. Daikoku NH. Benser J. Dubin NH. Lamellar body concentration and the prediction of fetal pulmonary maturity. *Amn J. Obstet Gynecol* 1994 Jan. 170 (1PT); 72-765
11. 1995 Greenspoon JS. Rosen DJ. Roll K. Dubin SB. Evaluation of lamellar body number density as the initial assessment in a fetal lung maturity test cascade. *J Reprod Med* 1995 Apr. 40 (4): 260-266
12. 1995 Dalance CR. Bowie LJ. Donhalo JC, farrel EE, Neerhof MG. Amniotic fluid lamellar body count; a rapid and reliable fetal lung maturity test. *Obstet Gynecol* 1995 Aug. 86 (2) : 235-9.
13. 1996 Lee IS, Ch YK. Kim KS. Mok JE. Lamellar body count in amniotic fluid a rapid screening test for fetal lung maturity. *J Paerinatol* 1996 May 16 (3PT 1) : 176-80.
14. 1997 Camilo J. Garcia E. Lozano C, galache P, Lozano J. Gonzalez H. Cuantificación de los cuerpos lamelares en el líquido amniótico ; un método para la evaluación de la madurez pulmonar fetal. *Gynecol Obstet Mex* Mayo 1997; 65:202-206
15. 1998 Piazzze JJ. Maranghi L. Nigro G. Rizzo G. Cosme EV. Anceschi MM The effect of glucocorticoid therapy on fetal lung maturity indices in Hypertensive pregnancies. *Obstet Gynecol* 1998 Aug. 92 (2) : 220-5
16. Osma S, Becerra C, Alarcón MA. (Osma: investigadora, Becerra y Alarcón, coinvestigadores). Conteo de cuerpos lamelares para la predicción de la madurez pulmonar fetal. Tesis de grado, postgrado de ginecoobstetricia de la Dra Sonia Osma, 1998, biblioteca Universidad Industrial de Santander
17. 1999 Lewis PS. Lauria MR. Dzieczkowski J. Utter GO. Dombrowski MP. Amniotic fluid lamellar body count: cost-effective screening for fetal lung maturity. *Obstet Gynecol* 1999 Mar. 93 (3) 287-391
18. 2001 Neerhof Mg. Donhal JC Ashwood ER , Lee I, Anceschi MM. Lamellar body counts a consensus on protocol. *Obstet Gynecol* 2001 , Feb.; 97(2)318-320
19. 1993 Ashwood ER, Palmer SE, Taylor JS, Pingree SS, Lamellar body counts for rapid lung maturity testing. *Obstet Gynecol* 1993 Apr. 81 (84): 619-94.

20. 1997 Aswood Er. Standards of laboratory practice: evaluation of fetal lung maturity. National Academy of Clinical Biochemistry . Clin Chem 1997 Jan. (1) :211-214.
21. 1981 Henderson - Smart DJ, Duck-Chong CG. Fetal lung maturation assessment after administration of glucocorticoids. Med Aust 1981 Nov 14; 2 (10); 535-6
22. Alfirevic Z, Mujezinovic F, Sundberg K, La Biblioteca Cochrane Plus, número 3, 2008. Oxford.
23. Hook EB, Cross PK, Schreinemachers DM. JAMA. 1983;249:2034. Knight GJ, Palomaki GE, Haddow JE. Clin Obstet Gynecol. 1988;31:306-327