

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE

De Luca, Ana Karina Cristiuma

Maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabete ou hiperglicemia leve / Ana Karina Cristiuma De Luca. – Botucatu : [s.n.], 2007

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, 2007

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Iracema de Mattos Paranhos Calderon

Co-orientador: Roberto Antonio de Araújo Costa

Assunto CAPES: 40101150

1. Amniocentese. 2. Hiperglicemia. 3. Surfactante pulmonar.
4. Diabetes na gravidez.

CDD 618.1

Palavras-chave: Amniocentese; Diabetes na gravidez; Maturidade pulmonar fetal; Síndrome do desconforto respiratório; Surfactante pulmonar.

Dedicatória

*Ao meu Pai, cujo nome preciso deixar marcado,
Ary Cristiuma, homem simples que fez do
trabalho e honestidade suas metas de vida. Fez das
gotas de seu suor o combustível para que eu pudesse
dar os passos para realizar sonhos que pareciam
impossíveis...*

*Pai, sinto sua presença sempre ao meu lado, ouço sua
voz dentro de meu coração, dizendo-me: “Vai filha,
tenho certeza de que vai dar certo”, e posso imaginar
como você está feliz e orgulhoso.*

Pai, muito obrigada!

À minha Mãe, aquela a quem contei meus sonhos e mais que depressa ela os idealizou, passando a correr atrás sem medir esforços ou obstáculos...

Mulher de fibra, corajosa, batalhadora. Minha melhor amiga, minha Mãe...

Ao Fernando, meu marido, incentivador, companheiro, cúmplice, “meu braço direito”, meu grande AMOR...

Ao meu filho João Pedro, luz da minha vida... Capaz de trazer alegria em qualquer situação com sua inocência, pureza e sorriso contagiante.

A grande Paixão da minha vida, o maior sonho que Deus me deixou realizar.

Agradecimentos Especiais

À Professora Dracema, profissional competente, atenta e disposta a nos fazer crescer. Exemplo marcante de Orientadora, presente em todos os passos desse trabalho. Sabe exigir na hora certa, aceita dividir conhecimentos e, principalmente, procura aprender sempre um pouco mais.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Roberto Antonio de Araújo Costa, por sua incansável colaboração na co-orientação desse trabalho.

Às graduandas da Faculdade de Medicina de Botucatu, Erika Alves de Oliveira, Beatriz Camargo Azevedo e Cristiane Yoshie Nakazawa, alunas da iniciação científica, grandes colaboradoras neste projeto.

À Professora Maria Aparecida Mourão Brasil, coordenadora geral do Grupo de Apoio à Pesquisa (GAP) da FMB-UNESP e ao Dr. Adriano Dias, coordenador técnico, pelas excelentes e esclarecedoras discussões e orientações durante a realização desta pesquisa.

Ao Hélio Rubens de Carvalho Nunes, consultor estatístico do GAP, pela sua capacidade de assimilação nos objetivos clínicos da pesquisa, seu grande interesse científico, sua disponibilidade, dedicação e gentileza na realização da análise estatística deste trabalho.

À Professora Mariza Branco, tradutora de língua inglesa do GAP, pelo apoio técnico.

À Juliana, secretária do GAP, pela cortesia e simpatia com que sempre me atendeu.

À Professora Lígia Maria S. S. Rugolo, por ter me ensinado a dar os primeiros passos no Mestrado, fundamentais para que eu pudesse subir mais esse degrau na minha carreira.

Aos amigos Adriana, Geraldo, Grasiela, João, Leia e Regina, pela grande incentivo e colaboração durante minhas ausências, para que eu pudesse dar andamento a esse trabalho.

Às amigas Adriana Saito e Alice Kiy, pela convivência, tolerância, apoio, cumplicidade, risadas e amizade sem julgamentos.

À Vera Lúcia dos Santos, por cuidar do meu filho e da minha casa com tanto amor e, dessa forma, me dar tranqüilidade para que eu possa enveredar em projetos como esse.

À Ana Cláudia, secretária da Pós-graduação da Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, por cuidar gentilmente da parte burocrática.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu, sempre dispostos e prestativos.

Ao Paulo César Lopes, secretário do Departamento de Pediatria, pela ajuda na confecção dos recursos visuais das aulas de qualificação e defesa de tese.

Deus! Sempre tão presente em minha vida!

Sumário

Resumo	
Summary	
Prefácio _____	19
Introdução _____	26
Justificativa _____	44
Objetivos _____	46
Sujeitos e Métodos _____	48
Referências Bibliográficas _____	56
Resultados _____	68
Artigo 1	
Clements' test, optical density at 650nm (OD _{650nm}) and lamellar body count (LBC) for the prediction of fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes and mild hyperglycemia	70
Artigo 2	
Influence of glycemic control on fetal lung maturity in gestations complicated by diabetes or mild hyperglycemia	92
Considerações Finais _____	117
Anexo _____	121

Resumo

Maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve

Introdução – O atraso na maturidade bioquímica pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes é descrito na literatura, por mecanismos ainda não esclarecidos. Alguns investigadores sugerem que a hiperglicemia e o hiperinsulinismo fetal seriam os responsáveis por essa complicação, pois a quantidade e qualidade do surfactante pulmonar é normal quando o controle glicêmico é adequado. Atualmente, a Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) é complicação rara em recém-nascidos de termo, filhos de mães diabéticas. Mas, ainda há dúvida sobre o comportamento do sistema surfactante nos recém-nascidos, de pré-termo, especialmente, na presença de hiperglicemia não-controlada. Essas observações são também validadas nas gestantes portadoras de hiperglicemia leve, com risco de eventos perinatais adversos, comparável ao das gestantes diabéticas. As secreções do pulmão fetal contribuem na composição do líquido amniótico e a quantidade de surfactante pulmonar pode ser estimada pela medida do surfactante no líquido amniótico. A amniocentese para avaliação da maturidade pulmonar fetal tem sido utilizada em gestações de risco, inclusive nas complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. Em nosso meio, os testes utilizados na avaliação da maturidade pulmonar fetal no líquido amniótico são o Clements, a densidade óptica a 650nm (DO_{650nm}) e a contagem de corpúsculos lamelares (CCL).

Objetivos – Avaliar o desempenho de testes de maturidade pulmonar fetal – Clements, DO_{650nm} e CCL; determinar a influência da qualidade do controle glicêmico materno nos resultados destes testes, nas gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. **Sujeitos e métodos** – O projeto foi constituído por dois estudos, um de validação dos testes de maturidade pulmonar fetal e outro de corte transversal, incluindo 192 gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve, submetidas à avaliação da maturidade pulmonar fetal com intervalo máximo de sete dias até o parto e acompanhadas no Serviço de Diabetes e Gravidez da Faculdade Medicina de Botucatu/UNESP. Foram critérios de exclusão, líquido amniótico contaminado por sangue e/ou mecônio; gestação múltipla; terapia corticosteróide antenatal até sete dias antes do parto e malformações graves ou cromossomopatias. No estudo da influência da qualidade do controle glicêmico nos resultados dos testes, foram excluídos os recém-nascidos com IG <34semanas. No estudo de validação dos testes de maturidade pulmonar fetal, a presença de SDR neonatal foi definida como padrão-ouro. Foram considerados como limites de maturidade pulmonar fetal, Clements positivo a partir da diluição 0,7; $DO_{650nm} \geq 0,15$ e $CCL \geq 32000/\mu l$. Foram comparados os índices de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia para cada um dos testes, isolados e em associação, e os $IC_{95\%}$ para especificidade e acurácia. No estudo da influência do controle glicêmico nos resultados dos testes de maturidade pulmonar fetal, a média glicêmica (MG) do terceiro trimestre de gestação foi considerada a variável independente, sendo categorizada em adequada ($MG \leq 120mg/dl$) e inadequada ($MG > 120mg/dl$). Os resultados dos testes de maturidade

pulmonar, Clements, DO_{650nm} e CCL, foram definidos como variáveis dependentes. Foram avaliados o percentual de maturidade dos três testes – Clements, DO_{650nm} e CCL; as medianas, e respectivos quartis, da DO_{650nm} e da CCL, e relacionados à MG adequada e inadequada, no termo e no pré-termo. As proporções foram comparadas pelos testes do qui-quadrado e exato de Fisher; as medianas, pelo teste de Mann-Whitney, considerando o limite de significância estatística de 95% (p e $\alpha < 0,05$). **Resultados** – Dos 192 pares de mães e recém-nascidos, 74 (38,5%) eram de diabéticas clínicas, 92 (47,9%) gestacionais e 26 (13,5%) tinham hiperglicemia leve. O controle glicêmico foi adequado em 150 (78,1%). Houve três casos de SDR (1,6%). No estudo de validação dos testes diagnósticos, todos os testes apresentaram sensibilidade e VPN de 100%. A especificidade do Clements foi de 85,9%, com acurácia de 86,2% (81,2; 91,1); a DO_{650nm} apresentou especificidade de 90,9% e acurácia de 91,0% (86,9; 95,1); na CCL foi observada especificidade de 94,2% e acurácia de 94,3% (91,0; 97,6). O VPP foi baixo nos três testes, respectivamente, 10,3; 15,0 e 21,4%. No estudo da influência da hiperglicemia materna no resultado dos testes, o percentual de maturidade não mostrou influência do controle glicêmico. Na $MG \leq 120mg/dl$, os percentuais de maturidade do Clements foram maiores no termo (91,9%) que no pré-termo (64,7%) ($p < 0,001$), o que não ocorreu no controle inadequado. Na $MG \leq 120mg/dl$, o valor da mediana da CCL foi mais elevado no termo (99,0; 62,0–154,0) que no pré-termo (66,5; 40,5–108,25) ($p = 0,009$). A $MG > 120mg/dl$ não diferenciou esses índices no termo ou pré-termo. No controle glicêmico adequado, os valores da mediana de DO_{650nm} foram semelhantes no termo e no pré-termo. Na $MG > 120mg/dl$, a mediana de DO_{650nm} no termo (0,29; 0,22–0,40) foi superior à observada no pré-termo (0,15; 0,12–0,18) ($p < 0,001$). **Conclusões** – Os testes tiveram bom desempenho na predição da SDR. A DO_{650nm} e a CCL foram comparáveis e melhores que o Clements, que não deve ser usado de forma isolada. O custo-benefício da $CCL \geq 32000/\mu l$ justifica seu emprego isolado como triador da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. As provas avaliadas mostraram influência do controle glicêmico materno em seus resultados. No termo da gestação, a avaliação da maturidade pulmonar não é necessária. No pré-termo e no controle glicêmico inadequado, esta avaliação ainda tem indicação.

Palavras-chave: maturidade pulmonar fetal, diabetes na gravidez, síndrome do desconforto respiratório, amniocentese, teste de Clements, densidade óptica a 650nm, contagem de corpúsculos lamelares

Summary

Fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes or mild hyperglycemia

Introduction: The mechanisms of delayed fetal lung biochemical maturity in pregnancies complicated by diabetes remain elusive. Hyperglycemia and hyperinsulinism have been implicated due to the fact that the quality and quantity of pulmonary surfactant are normal when glycemic control is adequate. At present, Respiratory Distress Syndrome (RDS) is a rare complication in term babies born to diabetic mothers. However, the behavior of the surfactant system in pre-term babies, especially in the presence of uncontrolled hyperglycemia, is still unclear. These observations are also valid for pregnant women with mild hyperglycemia, whose risk for adverse perinatal events are comparable to that in diabetic pregnant women. The amniotic fluid contains fetal pulmonary secretion and the pulmonary surfactant may be quantified by measuring its content in the amniotic fluid. Amniocentesis has been used to assess fetal lung maturity in risk pregnancies, including those complicated by diabetes or mild hyperglycemia. Fetal lung maturity in the amniotic fluid is most frequently assessed by the test of Clements, measurement of optical density at 650nm (OD_{650nm}) and lamellar body count (LBC). **Objectives:** To evaluate the performance of the test of Clements, optical density at 650nm (OD_{650nm}) and lamellar body count (LBC) in the assessment of fetal lung maturity; to determine the effect of maternal glycemia control on the results of these tests in pregnancies complicated by diabetes or mild hyperglycemia. **Subjects and methods:** This investigation was divided into two parts: 1) validation of fetal lung maturity tests; 2) Cross-sectional study including 192 pregnancies complicated by diabetes or mild hyperglycemia submitted to fetal lung maturity assessment within at most seven days before delivery and followed up at the Service of Diabetes and Pregnancy of Botucatu Medical School/São Paulo State University-UNESP. Exclusion criteria were: amniotic fluid contaminated with blood and/or meconium; multiple gestation; prenatal corticosteroid therapy within seven days before delivery; and severe malformations or chromosomopathies. In the evaluation of the effect of glycemic control quality on the tests performed, babies of $GA < 34$ weeks were excluded. For the validation of fetal lung maturity tests, the presence of neonatal RDS was defined as the gold-standard. Fetal lung maturity thresholds were; Clements-positive at a dilution of 0.7; $OD_{650nm} \geq 0.15$; and $LBC \geq 32000/\mu l$. For each test alone or in combination, sensitivity and specificity rates, PPV, NPV and accuracy were compared, as well as $CI_{95\%}$ for specificity and accuracy rate. In order to determine the effect of glycemic control quality on fetal lung maturity tests, glycemic mean (GM) at the third gestational trimester was considered the independent variable, which was categorized as adequate ($GM \leq 120mg/dl$) or poor ($GM > 120 mg/dl$). The results of Clements' test, OD_{650nm} and LBC were considered as dependent variables. Maturity percentage was determined in the 3 tests – Clements', OD_{650nm} and LBC, as well as medians and quartiles in OD_{650nm} and LBC, which were related to adequate or poor GM at term and pre-

term. Proportions were compared by the Chi-square test and exact test of Fisher, and medians were compared by the Mann-Whitney test. Statistical significance was set at 95% (p and $\alpha < 0.05$). **Results:** Of the 192 mother/baby pairs, 74 (38.5%) had clinical diabetes, 92 (47.9%) had gestational diabetes, and 26(13.5%) had mild hyperglycemia. Glycemic control was adequate in 150 (78.1%) women. Three cases (1.6%) of RDS were observed. The assessment of the diagnostic tests revealed that sensitivity and NPV were 100% in all tests. Specificity and accuracy rates were, respectively, 85.9% and 86.2% (81.2;91.1) for the test of Clements; 90.9 % and 91.0% (86.0;95.1) for OD_{650nm}; 94.2% and 94.3% (91.0; 97.6) for LBC. PPV was low in the all three tests (test of Clements = 10.3%; OD_{650nm}=15.0%; LBC =21.4%). The study of the effect of maternal hyperglycemia on test results showed that maturity percentage had no effect on glycemic control. Clements maturity rates were higher at term (91.9%) than at pre-term (64.7%) when GM \leq 120mg/dl ($p < 0.001$), but not when GM $>$ 120 mg/dl. LBC median was higher at term (99.0; 62.0-154.0) than at pre-term (66.5; 40.5-108.25) ($p = 0.009$) when GM \leq 120mg/dl, while GM $>$ 120 mg/dl did not lead to any difference between these rates at term or pre-term. When glycemic control was adequate, OD_{650nm} medians at term and at pre-term were similar. However, when GM $>$ 120 mg/dl, OD_{650nm} median at term (0.29; 0.22-0.40) was superior to that observed at pre-term (0.15; 0.12-0.18) ($p < 0.001$). **Conclusions:** All tests were good predictors of RDS. OD_{650nm} and LBC were comparable and better than the test of Clements, which should not be used alone. The cost-benefit rate of LBC $\geq 32000/\mu\text{l}$ justifies its isolated use as a screening test for fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes or mild hyperglycemia. The influence of maternal glycemic control on test results was demonstrated. LBC should be performed in pre-term pregnancies, as well as when glycemic control is poor.

Key words: fetal lung maturity, diabetes in pregnancy, respiratory distress syndrome, amniocentesis, Clements' test (shake test), optical density at 650nm, lamellar body count



Definição e classificação do diabetes na gestação

Diabete mellitus é doença endócrino-metabólica que pode estar presente na gestação e, conseqüentemente, associada a efeitos adversos materno-fetais. Ele pode ser pré-gestacional, tipo 1 ou tipo 2, ou gestacional ⁽¹⁾.

A intolerância aos carboidratos, de qualquer etiologia, cujo desenvolvimento ou diagnóstico ocorra durante a gravidez é denominada diabete gestacional. Seu reconhecimento pela primeira vez na gestação não descarta a possibilidade de sua pré-existência e esta condição pode persistir ou não após o parto. Mulheres com diabete gestacional têm risco aumentado para desenvolver diabete tipo 2 após a gestação ⁽²⁾.

O diabete na gestação pode ser classificado de acordo com a etiologia, em clínico (tipo 1 ou 2) ou gestacional; com o prognóstico, nas classes de Priscila White e com os testes diagnósticos, nos grupos descritos por Rudge, desde 1983.

A classificação do diabete nas classes de Priscila White ⁽³⁾ só é utilizada para a gestação, tem boa relação prognóstica e evolutiva e leva em consideração o tipo de tratamento e a presença de vasculopatia:

- A – diabete gestacional controlado apenas com dieta e exercício físico
 - A/B – diabete gestacional controlado com dieta, exercício físico e insulina
-

- B e C – diabetes clínico (pré-existente à gestação) sem vasculopatia
- D, F, H, R, T – diabetes clínico (pré-existente à gestação) com vasculopatia

A classificação nos grupos de Rudge ⁽⁴⁾ baseia-se nas respostas aos testes diagnósticos – teste oral de tolerância à glicose de 100g (TTG100g) e perfil glicêmico (PG), aplicados em paralelo na gestação. Os resultados destes dois testes definem três grupos de gestantes com distúrbios hiperglicêmicos distintos, além do grupo de gestantes com resposta normal, ou seja, euglicêmicas (Quadro 1).

Quadro 1. Classificação diagnóstica de Rudge⁽⁴⁾

Grupos	Resultados dos testes	Classificação diagnóstica
IA	TTG100g normal e PG normal	Gestante normal
IB	TTG100g normal e PG alterado	Hiperglicemia leve
IIA	TTG100g alterado e PG normal	Diabetes gestacional (DMG)
IIB	TTG100g e PG alterados	DMG ou diabetes clínico

O grupo IB não representa, propriamente, as diabéticas gestacionais, mas sim as gestantes com alterações nas glicemias ao longo do dia, confirmadas pelo perfil glicêmico. Caracteriza, portanto, a hiperglicemia leve, fator responsável por risco materno e desfecho perinatal adverso, comparável aos observados no diabetes gestacional ⁽⁵⁻⁷⁾.

Incidência do diabetes na gestação

Aproximadamente 7,0% de todas as gestações são complicadas por diabetes. Essa prevalência pode variar de 1,0 a 14,0%, dependendo da população estudada e dos testes diagnósticos empregados ^(2,8). Em países europeus são descritas taxas de diabetes clínico e pré-gestacional que variam de 0,2 a 0,4% de todas as gestações e, de diabetes gestacional, entre 0,15 e 4% ⁽⁹⁾. Estudos mais recentes referem incidências maiores, atingindo de 3 a 8% ⁽¹⁰⁾. As estatísticas americanas indicam aumento de mais de dois terços no período compreendido entre 1990 a 2004, passando de 21,3 para 35,8 por 1000 nascidos vivos. Ainda, no ano de 2004, a associação diabetes e hipertensão arterial foi confirmada em mais de 4% das gestações, correspondendo a uma taxa de 35,8 casos por 1000 nascimentos. ⁽¹¹⁾.

Na Faculdade de Medicina de Botucatu–Unesp, no período entre 1985 e 1994, a incidência de gestações complicadas por diabetes foi de 6,7%, considerando-se apenas os grupos IIA e IIB de Rudge. Esta incidência aumenta para 20,4% quando se inclui o grupo IB de Rudge ⁽¹²⁾.

Repercussões perinatais da hiperglicemia materna

Durante a gestação ocorrem alterações hormonais e metabólicas, que culminam com aumento da resistência à ação da insulina, definindo estado de estresse diabetogênico. Fisiologicamente, ocorre aumento na produção de insulina com redução nos níveis glicêmicos maternos. Na ausência de resposta pancreática suficiente, característica do diabetes gestacional, ou nos casos de diabetes pré-existente, essa adaptação não é adequada, resultando em hiperglicemia materna. Essa glicose aumentada tem difusão facilitada na placenta e induz à hiperglicemia e, conseqüentemente, à hiperinsulinemia fetal. A associação hiperglicemia-hiperinsulinemia fetal parece ser a chave para o comprometimento do filho de mãe diabética ^(5, 13, 14).

Os níveis glicêmicos fetais aumentados levam à hipertrofia das células beta pancreáticas, com aumento na secreção de insulina em até cinco a seis vezes, a partir da 10^a semana de gestação. O hiperinsulinismo fetal determina maior lipogênese e aumento da síntese de proteínas e glicogênio, responsáveis pela macrossomia. Além do maior transporte materno-fetal de glicose, o de aminoácidos e lipídeos também está elevado, o que contribui ainda mais para o estímulo à secreção de insulina fetal. Nestas condições, associado à macrossomia, o recém-nascido de mãe diabética tem maior risco de hipoglicemia neonatal, contribuindo para a morbidade nesse período ^(13, 14).

O recém-nascido de mãe diabética é conhecido como “gigante dos pés de barro” – grande, mas vulnerável, pelo maior risco de morbimortalidade. Várias intercorrências neonatais, de incidência e gravidade diretamente relacionadas ao controle metabólico materno, estão associadas. Dentre elas, o abortamento, com incidência três vezes maior que na população geral, pela associação com malformações fetais e controle metabólico materno inadequado. As malformações congênitas estão relacionadas a níveis elevados de hemoglobina glicada no período pré-conceptual e no primeiro trimestre da gestação, sendo comuns as malformações cardíacas, esqueléticas, do sistema nervoso central, gastrintestinais e geniturinárias ^(5, 13, 14).

Entre os desvios de crescimento, a macrossomia é mais freqüente, com risco aumentado de toco-traumatismos, distócias intraparto e distúrbios metabólicos (hipoglicemia), eletrolíticos (hipocalcemia e hipomagnesemia) e hematológicos (hiperbilirrubinemia, policitemia e tromboembolia). A restrição de crescimento intra-uterino (RCIU) está associada às gestações complicadas por vasculopatia (classes D a FRH de P. White) e controle glicêmico de má qualidade. Independentemente dos desvios de crescimento, a insuficiência placentária e a hipóxia/asfixia são complicações perinatais de risco para a morbimortalidade destes recém-nascidos ^(5, 13, 14).

A incidência de prematuridade é 2,5 a 3,5 vezes maior que na população geral, facilitada por complicações como polidrâmnio, pré-eclâmpsia, infecção do trato urinário e necessidade de interrupção precoce da gestação por descontrole metabólico materno ^(5, 13, 14). Além disso, a hiperinsulinemia do meio intra-uterino pode retardar a maturidade pulmonar fetal e,

conseqüentemente, aumenta o risco de Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) ^(5, 13, 14). A mortalidade perinatal, apesar de maior que na população geral, diminuiu bastante nas últimas décadas. No início do século XX, antes do advento da insulino-terapia, era próxima de 100% e, atualmente, é de apenas 2%. Na opinião de alguns autores, essa queda é decorrente da melhor qualidade no diagnóstico e no manejo das gestantes diabéticas, do desenvolvimento de novas técnicas para avaliação da maturidade e da vitalidade fetal e do avanço nos cuidados intensivos neonatais ⁽⁵⁾. Nesse contexto, a avaliação contínua de protocolos de condutas de serviços especializados, originada de pesquisa de boa qualidade, deverá contribuir para a implementação de novas orientações e para a garantia do bom prognóstico materno-fetal no binômio diabetes e gravidez.



Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR)

À medida que a fisiopatologia do diabetes clínico e gestacional e de suas complicações passou a ser melhor compreendida, aumentou a preocupação com o seu controle pré-natal. Vários estudos indicam que um controle glicêmico adequado diminui a morbi-mortalidade materno-fetal e a maturidade pulmonar fetal é comparável a de uma gestação normal ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

O diabetes associado à gestação pode comprometer a produção de surfactante ocasionando atraso na maturidade pulmonar fetal. Esse efeito foi amplamente reconhecido nas últimas décadas como responsável pelo aumento da morbidade respiratória dessas crianças, estimando-se risco de até 20 vezes maior para desenvolver SDR ⁽¹⁸⁾.

A SDR é entidade clínica caracterizada por deficiência quantitativa e qualitativa de surfactante alveolar, desenvolvimento estrutural incompleto do parênquima pulmonar e complacência exagerada da caixa torácica. É doença que acomete principalmente recém-nascidos prematuros, estando sua incidência e gravidade diretamente relacionadas ao grau de prematuridade ⁽¹⁹⁻²¹⁾.

O surfactante pulmonar é sintetizado pelos pneumócitos tipo II e armazenado na forma de estruturas denominadas corpos ou corpúsculos lamelares. O aumento no número desses corpúsculos é proporcional à idade gestacional e, conseqüentemente, à capacidade do pneumócito tipo II de

produzir os fosfolipídios pulmonares. Os corpos lamelares são identificados no citoplasma dos pneumócitos em torno da 24^a semana de gestação, mas a presença do surfactante no líquido amniótico é mais intensa a partir da 32^a semana, sugerindo que a secreção de surfactante é posterior ao aparecimento dos corpúsculos lamelares ⁽²²⁾.

No termo da gestação, o surfactante pulmonar constitui-se de mistura heterogênea, aproximadamente, 90% de fosfolipídios e 10% de proteínas. Os fosfolipídios mais abundantes são a fosfatidilcolina (ou lecitina) e o fosfatidilglicerol. Fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina e esfingomiélinina são muito menos abundantes. A síntese de lecitina aumenta gradualmente a partir da 28^a semana até o parto, com pico de produção na 36^a semana. Similarmente, a produção de fosfatidilinositol é evidente na 28^a semana, com pico entre 32 e 35 semanas. O último fosfolipídio a aparecer no pulmão fetal é o fosfatidilglicerol, em torno da 36^a semana, aumentando até o termo. Em relação às proteínas, são quatro as sintetizadas pelos pneumócitos tipo II (SP-A, SP-B, SP-C e SP-D). A SP-A e SP-D são hidrofílicas. A SP-A é responsável pela regulação da secreção e reciclagem de surfactante; a SP-D, por respostas imunológicas no pulmão e parece contribuir também no metabolismo. A SP-B e SP-C são hidrofóbicas e desempenham função surfactante, são armazenadas nos corpos lamelares e eventualmente são secretadas para o espaço alveolar com os fosfolipídios ⁽²²⁾.

A exata explicação para o atraso na maturidade pulmonar fetal de filhos de mães diabéticas permanece pouco esclarecida. Vários investigadores sugerem que a hiperglicemia e o hiperinsulinismo fetais são

responsáveis por essa alteração ^(23,24). Fetos de mães diabéticas estão submetidos a um regime de hiperinsulinismo, que inibe o desenvolvimento de enzimas necessárias para a síntese dos fosfolípidios componentes do surfactante. A incorporação de colina na lecitina e de glicose e ácidos graxos na fosfatidilcolina saturada encontram-se diminuídas, retardando, assim, a maturação do sistema surfactante. Além disso, o hiperinsulinismo fetal antagoniza a ação do cortisol na síntese do surfactante pulmonar com diminuição do número de receptores pulmonares aos glicocorticóides ^(14, 25).

Em 1993, Piper et al. ⁽¹⁵⁾ publicaram os resultados de um estudo onde compararam o tempo de aparecimento dos marcadores de maturidade pulmonar fetal no líquido amniótico de 289 diabéticas e 540 não-diabéticas. As 140 mulheres com bom controle glicêmico (média glicêmica <105mg/dl) apresentaram resultados semelhantes às não-diabéticas. Em contraste, 149 gestantes com controle inadequado (média glicêmica >105mg/dl) apresentaram atraso significativo no aparecimento de fosfatidilglicerol, ausente em 25,0% dos casos na 38ª semana. Em 1998, esses mesmos autores compararam 261 diabéticas com controle metabólico adequado com 360 de controle glicêmico inadequado, estratificadas por idade gestacional. Eles encontraram risco aumentado de fosfatidilglicerol negativo no grupo com controle inadequado (OR 1,83; IC95% 1,19–2,94). A diferença entre controle glicêmico adequado e inadequado foi mais acentuada entre 36 e 37,9 semanas, com frequência de fosfatidilglicerol negativo de 37,0% no grupo sem controle metabólico e de 22,0% no grupo com bom controle (OR 2,04; IC95% 1,1–3,9). Na faixa entre 34 e 36 semanas, 58% das diabéticas mal controladas

apresentaram o teste negativo, enquanto que isso aconteceu somente em 36% daquelas com bom controle. Na idade gestacional menor que 34 semanas, ambos os grupos tiveram predomínio de fosfatidilglicerol negativo (92,0 e 92,0%). Todos os casos de SDR ocorreram com idade gestacional acima de 32 semanas e controle metabólico inadequado; nenhum caso de SDR foi observado na idade gestacional superior a 37 semanas. Os autores concluíram que há atraso no aparecimento de fosfatidilglicerol em diabéticas de controle glicêmico inadequado, entretanto, acima de 37 semanas, a ocorrência de SDR não é significativa, independentemente da qualidade do controle glicêmico ⁽¹⁶⁾.

Estudo mais recente não confirmou atraso no aparecimento de fosfolípidios no líquido amniótico de portadoras de diabete, independentemente da qualidade do controle glicêmico, avaliado pela concentração de hemoglobina A₁C ⁽²⁶⁾. O mesmo aconteceu no estudo de Moore ⁽²⁷⁾, que apesar de detectar atraso na produção de fosfatidilglicerol nas gestantes diabéticas comparadas aos controles, não conseguiu demonstrar influência do controle glicêmico materno. O próprio autor sugere que talvez o critério para a definição de “bom controle” (>90% das medidas de glicose capilares diárias adequadas; jejum<95mg/dl e duas horas pós-prandial <120mg/dl) tenha sido inadequado para demonstrar tal diferença.

Além da dificuldade em se manter um controle glicêmico adequado, o diabete na gestação está associado a outras complicações, entre elas, a hipertensão arterial e a pré-eclâmpsia, condições estas que muitas vezes levam à necessidade da interrupção precoce da gestação ⁽²⁸⁾. As gestações complicadas por distúrbios hipertensivos, no entanto, favorecem a

aceleração da maturidade pulmonar fetal, pela hipóxia a que esses fetos são submetidos intra-útero e, conseqüentemente, previne a SDR, mesmo nas idades gestacionais inferiores 34 semanas ⁽²⁹⁾.

Nas gestações complicadas pelo diabete, com idade gestacional igual ou superior a 38 semanas e controle metabólico adequado, a análise do líquido amniótico é dispensável. No entanto, em casos de descontrole metabólico ou pré-natal inadequado, onde há dúvida da idade gestacional, essa avaliação se impõe ⁽¹⁷⁾.

Avaliação da maturidade pulmonar fetal

Vários testes laboratoriais avaliam a maturidade pulmonar fetal, pela medida, direta ou indireta, das concentrações de fosfolipídios no líquido amniótico. As provas específicas são as mais utilizadas, entre elas, a quantificação dos fosfolipídios pulmonares – relação lecitina/esfingomielina (L/E), fosfatidilglicerol e fosfatidilinositol; o teste de Clements; a densidade óptica a 650nm (DO_{650nm}); a relação surfactante-albumina (TDx) e, mais recentemente, a contagem de corpúsculos lamelares (CCL) ⁽²²⁾.

Relação L/E

É teste considerado padrão-ouro para avaliação da maturidade pulmonar fetal. Descrita em 1971 por Gluck et al ⁽³⁰⁾, baseia-se na observação de que os níveis de lecitina aumentam da 28ª semana até o nascimento e os de esfingomielina permanecem relativamente constantes durante toda a gestação. Na gestação normal, a relação L/E varia de valores menores que 0,5 na 20ª semana até 2,0 ou mais em torno da 35ª-36ª semanas. O *cut-off* de 2,0 é freqüentemente utilizado como indicativo de maturidade pulmonar fetal ⁽²³⁾. Com este valor, sua sensibilidade varia de 50,0-100,0%, a especificidade de 60,0-97,0%, o VPP 19,0-83,0% e o VPN de 86,0-100,0%. ⁽²²⁾ O resultado do exame não sofre alteração por contaminação de sangue ou mecônio, mas demanda tempo, técnica sofisticada e aparelho apropriado, resultando em custo mais elevado ⁽²²⁾.

Fosfatidilglicerol

Outro teste considerado padrão para avaliar a maturidade pulmonar fetal é a determinação de fosfatidilglicerol. Esse fosfolípido aparece por volta da 36^a semana, cerca de oito semanas depois da lecitina (28^a semana), sendo considerado marcador tardio da maturidade pulmonar fetal. A concentração igual ou superior a 2% é indicativo de maturidade pulmonar. Associado à relação L/E >2, diminui os resultados falso negativos. Os resultados de vários estudos mostram índices de sensibilidade que variam de 83,3-100,0%, especificidade de 47,5-87,7%, VPP 8,6-50,0% e VPN 96,7-100,0%. Como a relação L/E, sua maior vantagem é não sofrer alteração por sangue ou mecônio, apesar do custo técnico elevado, pela demanda de tempo e necessidade de aparelho específico ⁽²²⁾.

Teste de Clements

Em 1972, Clements et al. ⁽³¹⁾ descreveram um teste com base na propriedade biofísica do surfactante de manter uma superfície de tensão na interface ar-líquido, representada pela formação de um halo estável de bolhas, pela reação com o álcool (esterificação). O teste consiste na diluição progressiva do líquido amniótico em solução salina a 0,9% e a volume igual de etanol a 95%, seguido de agitação e observação do anel de bolhas. No teste original, os autores descreveram cinco diluições com diferentes volumes de líquido amniótico (1,0; 0,75; 0,5; 0,25; 0,2 ml) e adicionaram soro fisiológico, em quantidade necessária para completar 1,0ml, e acrescentaram 1,0ml de etanol a todas as diluições. O teste foi considerado positivo na presença de anel estável e completo de bolhas a partir do terceiro tubo, contendo 0,5ml de líquido amniótico (tubo 3) ⁽³¹⁾. Ao longo dos anos, o teste de Clements foi

sofrendo alterações no método e, no Laboratório da Faculdade de Medicina de Botucatu–Unesp, padronizou-se um método modificado em relação à técnica inicialmente descrita ⁽³²⁾.

Essa técnica modificada consiste na preparação de seis diluições diferentes de líquido amniótico (LA):

- 1º tubo: 1,0 ml LA + 1,0 ml etanol
- 2º tubo: 0,9ml LA + 0,1 ml soro fisiológico + 1,0 ml etanol
- 3º tubo: 0,8ml LA + 0,20 ml soro fisiológico + 1,0 ml etanol
- 4º tubo: 0,7 ml LA + 0,3 ml soro fisiológico + 1,0 ml etanol
- 5º tubo: 0,6 ml LA + 0,4 ml soro fisiológico + 1,0 ml etanol
- 6º tubo: 0,5ml LA + 0,5 ml soro fisiológico = 1,0 ml etanol

O teste é considerado positivo para maturidade pulmonar fetal quando há formação de anel estável de bolhas nos tubos 4, 5 ou 6, ou seja, nas diluições 0,7; 0,6 e 0,5.

Na tentativa de caracterizar o efeito que diferentes concentrações de etanol produziam na estabilidade do anel de espuma, Sher et al., em 1978 ⁽³³⁾ desenvolveram um teste semi-quantitativo, nomeado de índice de estabilidade da espuma. Nessa adaptação, centrifuga-se 0,5 ml de líquido amniótico com vários volumes de etanol a 95%, de forma que o seu volume final varia de 42,0 a 55,0%. Os tubos são agitados por 30 segundos e, após 15 segundos, observados os anéis de espuma. O resultado é dado a partir do maior volume de etanol que suportou um anel estável. Estabeleceu-se um índice $\geq 47,0$ ou 48,0%, como indicativo de maturidade pulmonar. O risco de

SDR é inversamente proporcional ao valor do índice de estabilidade da espuma⁽²²⁾.

Os estudos que utilizaram o teste de Clements mostraram valores de sensibilidade variando de 57,1 a 100,0% e de especificidade de 54,0 a 87,2%⁽³⁴⁾. Quando associado ao índice de estabilidade da espuma, observou-se aumento da sensibilidade, atingindo índices de 98,0%. Apesar disso, a especificidade próxima de 85,0% favorece resultados falso-negativos⁽²²⁾.

Densidade óptica a 650nm (DO_{650nm})

Esse método baseia-se na determinação do total de luz dispersa pelo surfactante presente no líquido amniótico e armazenado nos corpúsculos lamelares. O resultado representa a diferença de DO entre o líquido amniótico diluído em glicerol e em água destilada, na faixa de 650nm⁽³⁵⁻⁴¹⁾. Nessa faixa específica de 650nm, o resultado do teste não é influenciado por contaminantes cromógenos, como hemoglobina ou bilirrubina.⁽⁴¹⁾ O limite de $DO_{650nm} \geq 0,15$, indica maturidade pulmonar fetal⁽⁴¹⁾.

Não há estudos recentes na literatura sobre essa técnica, o último data de 1996, onde foram avaliadas 86 amniocenteses, incluindo 13 gestantes diabéticas. A maturidade pulmonar fetal (n=78) foi confirmada com índices de DO_{650nm} entre 0,018 e 0,471; a imaturidade, com presença de SDR (n=8), nos valores de DO_{650nm} entre 0,004 e 0,036. Considerando o *cut-off* de $DO_{650nm} > 0,040$, observou-se sensibilidade de 100,0%, especificidade de 96,2% e valores preditivos positivos para SDR e maturidade pulmonar de 72,2 e 100,0%, respectivamente⁽⁴²⁾.

Relação surfactante/albumina

A medida da relação surfactante/albumina, por polarização de fluorescência, é método de avaliação quantitativa da maturidade pulmonar fetal bastante utilizado nos países desenvolvidos. Baseia-se na ligação competitiva de uma sonda fluorescente à albumina e ao surfactante no líquido amniótico. A polarização é alta quando a sonda está ligada à albumina e baixa quando ligada ao surfactante. Foi originalmente descrito em 1976, por Shinitzky, e sofreu modificações na técnica ao longo dos anos, na tentativa de diminuir custos. Atualmente, o método mais utilizado é o TDxFLM II, que utiliza o equipamento da *Abbott Laboratories*, com valores de referência de 55mg ou mais de surfactante/g de albumina para a maturidade pulmonar; de 39mg ou menos de surfactante/g de albumina para a imaturidade e os resultados com valores intermediários são considerados como “maturidade indeterminada”⁽²²⁾. Alguns estudos que avaliaram a acurácia da relação surfactante/albumina, utilizando o TDxFLMII, encontraram índices excelentes de sensibilidade (95,7-100%), com especificidade de 60,0-84,0%, VPP de 13,6-36,4% e VPN de 98,9-100,0% ⁽²²⁾.

No Brasil quase não há relatos do uso dessa técnica. Em 2003, Luz et al. ⁽⁴³⁾ avaliaram 62 amniocenteses entre 28 e 42 semanas de gestação, e compararam os resultados da relação surfactante/albumina com os do teste de Clements e da CCL. Verificou-se sensibilidade e VPN de 100,0% para os três testes e especificidade de 93,4%, 47,5% e 83,6%; VPP de 20,0%, 3,0% e 9,0% e acurácia de 93,5%, 48,4% e 83,9%, respectivamente, para relação surfactante/albumina, Clements e CCL. Os autores concluíram que a relação surfactante/albumina foi o teste que apresentou melhor desempenho para avaliação da maturidade pulmonar fetal.

Contagem de corpúsculos lamelares (CCL)

A CCL baseia-se na fisiologia de produção e secreção do surfactante pulmonar pelos pneumócitos tipo II. Os fosfolipídios que constituem o surfactante são produzidos pelos pneumócitos tipo II, armazenados na forma de corpos ou corpúsculos lamelares, secretados no espaço alveolar e detectados no líquido amniótico⁽⁴⁴⁾. Essa técnica vem sendo utilizada há quase 20 anos, com estimativa objetiva da quantidade de surfactante no líquido amniótico⁽⁴⁵⁾.

O tamanho do corpúsculo lamelar (1-2 μ m) é similar ao da plaqueta (2-4 μ m), possibilitando sua quantificação nos canais de plaquetas de aparelhos de automação, utilizados para contagem de células hematológicas⁽²²⁾. Considerando que a maioria dos hospitais possui aparelhos de automação e comparado a outros métodos de avaliação de fosfolipídios pulmonares, este teste mostrou-se mais prático, de execução mais fácil e rápida e, sobretudo, de menor custo⁽⁴⁴⁾. Nos EUA, o emprego deste exame, como alternativa aos testes padrão-ouro, resultou na redução, em torno de ¾ dos casos, da necessidade de utilização de técnicas mais complexas, além da economia no custo hospitalar, estimada em 9,8 milhões de dólares/ano⁽⁴⁶⁾.

Em 1999, Lewis et al.⁽⁴⁷⁾, usando 209 amostras de líquido amniótico, estabeleceram como *cut-off* para maturidade pulmonar valores maiores que 32000corpúsculos/ μ l. Nesse limite, demonstraram 98,0% de especificidade, VPP de 99,0% e VPN de 63,0% para a CCL, comparada com resultados positivos da relação L/E e/ou fosfatidilglicerol. Da mesma maneira, na CCL <8000corpúsculos/ μ l, os índices de especificidade e VPP atingiram

100,0%, com VPN de 86,0%, caracterizando a imaturidade pulmonar. Resultados intermediários, variando entre ≥ 8000 e < 32000 corpúsculos/ μl , foram considerados como indicativos de maturidade indefinida, sendo necessária, na opinião dos autores, a complementação com outros testes.

Na literatura há divergência sobre os valores de referência para a CCL na confirmação da maturidade pulmonar fetal. Diferentes *cut-offs* têm sido sugeridos, desde 20000 até 57000 corpúsculos/ μl ^(9,48-56). Independentemente dos limites, esses estudos demonstraram que a CCL tem desempenho igual ou melhor que a relação L/E, com valores de sensibilidade de 100,0%, ou muito próximo a isso, na grande maioria dos casos, e especificidade variando de 54,0 a 100,0% (média de 70,0%) ^(9, 22, 48-56).

Em 2001, os resultados de um estudo multicêntrico foram apresentados em um consenso e orientaram a interpretação dessa prova. CCL $\geq 50000/\mu\text{l}$ confirma a maturidade pulmonar fetal; valores >15000 e $<50000/\mu\text{l}$ representam resultado indefinido e $\leq 15000/\mu\text{l}$ caracterizam imaturidade pulmonar ⁽⁴⁴⁾.

Avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes

Ainda que, para a maioria dos autores, os pontos de corte das provas de avaliação sejam os mesmos da gestação não-diabética, há controvérsias importantes na literatura. Entre elas, a diferenciação no tempo de produção dos fosfolipídios no pulmão fetal e no momento em que os índices bioquímicos de maturidade pulmonar serão atingidos, a influência da qualidade, e seus respectivos critérios, do controle glicêmico materno e, sobretudo, a real necessidade de avaliação da maturidade pulmonar fetal nas gestações complicadas pelo diabetes.

Estudo da prevalência de SDR em 526 mulheres portadoras de diabetes demonstrou que relação L/E ≥ 2 , fosfatidilglicerol > 2 a 5% e $DO_{650nm} \geq 0,15$, correlacionam-se com valores de 100,0% de sensibilidade e de VPN na identificação de ausência de risco de SDR, apesar do VPP baixo, respectivamente, 15,0, 9,0 e 3,0% ⁽⁵⁷⁾.

Moore ⁽²⁷⁾ conduziu um estudo caso-controle que envolveu 295 gestantes diabéticas e 590 não-diabéticas. Os resultados apontaram para atraso, de 1 a 1,5 semanas, na produção de fosfatidilglicerol nos grupos diabéticos ($38,7 \pm 0,9$ semanas no diabetes pré-gestacional; $37,3 \pm 1$ semanas diabetes gestacional), quando comparadas aos controles ($35,9 \pm 1,1$ semanas). De acordo com o autor, o atraso de 1,0 a 1,5 semanas na produção de fosfatidilglicerol parece estar associado à elevação precoce e sustentada dos níveis de fosfatidilinositol na 32^a-34^a semana de gestação, independentemente

da qualidade do controle glicêmico materno, do sexo ou da macrosomia fetal. Berkowitz et al. ⁽⁵⁸⁾ avaliaram os resultados de relação L/E e fosfatidilglicerol em 501 gestantes portadoras de diabetes gestacional e 561 não-diabéticas. Independentemente da faixa de idade gestacional, não encontraram diferença entre os grupos. No grupo de estudo, com 37 semanas completas, o percentual de maturidade pulmonar, identificado pela relação L/E foi de 86,0% e, pelo fosfatidilglicerol, de 78,0%. Comparados com os percentuais do grupo não-diabético, 80,0 e 78,0%, respectivamente ($p = 0,33$ e $p = 0,43$), não se confirmou atraso bioquímico da maturidade pulmonar fetal nas gestações complicadas por diabetes.

A avaliação de 45 gestantes diabéticas (19 pré-gestacionais e 26 gestacionais), com controle glicêmico adequado (glicemia de jejum $<105\text{mg/dl}$ e 2h pós-prandial $<120\text{mg/dl}$), não observou atraso significativo nos testes de maturidade pulmonar fetal, em relação ao grupo não-diabético. A CCL apresentou valor médio de $42,8 \pm 36,9 \times 10^3/\mu\text{l}$ no grupo de estudo e de $41,5 \pm 30,4 \times 10^3/\mu\text{l}$ no controle ($p < 0,72$) ⁽⁹⁾.

Estudo com 90 gestantes diabéticas (76 de termo e 14 pré-termo) comparou a CCL com a relação L/E ≥ 2 e a presença de fosfatidilglicerol. Os resultados de CCL variaram de 13000 a 256000/ μl . Houve correlação significativa entre os testes (CCL x L/E: $r = 0,51$, $p < 0,01$; CCL x fosfatidilglicerol: $r = 0,57$, $p < 0,01$). Usando como valor de corte CCL $\geq 37000/\mu\text{l}$, a especificidade foi de 100,0%, a sensibilidade de 81,0% e o VPP de 100,0%. Não houve caso de SDR, inclusive nos resultados de CCL $< 37000/\mu\text{l}$ ⁽⁵⁹⁾.

Um outro estudo objetivou identificar quais os valores de corte para L/E e CCL, que melhor se correlacionavam com a presença de fosfatidilglicerol, em 76 gestações complicadas por diabetes. Concluiu-se que a relação L/E ≥ 3 e a CCL ≥ 50000 apresentaram sensibilidade de 68,0 e 92,0% e taxa de falso positivo de 6,0 e 0,0%, respectivamente ⁽⁶⁰⁾.

No Brasil há apenas um estudo com a CCL nestas gestações, comparando os resultados desta prova com os do teste de Clements em 62 amniocenteses de portadoras de diabetes, gestacional ou clínico. A ocorrência de SDR foi confrontada com os resultados de maturidade pulmonar no líquido amniótico (Clements com anel completo no 3º tubo e CCL $\geq 50000/\mu\text{l}$). A CCL apresentou desempenho diagnóstico satisfatório, indicado pela diferença significativa nos índices de especificidade (87,3 x 52,7%; $p < 0,001$), VPP (50,0 x 16,1%; $p = 0,017$) e acurácia (88,7 x 54,8%; $p < 0,001$) e pela equivalência nos valores de sensibilidade (100,0 x 71,4%, $p = 0,127$) e VPN (100,0 x 93,5%, $p = 0,075$) ⁽³⁴⁾.

A maturidade pulmonar fetal pode estar atrasada nas gestações complicadas por hiperglicemia ou diabetes de qualquer tipo, particularmente naquelas onde não há controle metabólico adequado. Entretanto, a maioria dos recém-nascidos com mais de 34 semanas de idade gestacional não terá SDR, mesmo na presença de um teste imaturo, com controle metabólico adequado ⁽⁶¹⁾. Os protocolos, dos mais renomados Serviços Especializados de Diabetes e Gravidez, destacam alguns pontos de importância na avaliação da maturidade pulmonar fetal nessas gestações de risco, auxiliando na decisão do

momento e da via de parto ⁽⁶¹⁻⁶³⁾. Via de regra, a avaliação da maturidade pulmonar fetal:

- é dispensável quando houver risco fetal ou materno que indique resolução imediata da gestação;
 - deverá ser realizada quando houver comprometimento materno ou fetal, mas não risco imediato de morte, podendo o parto ser adiado;
 - deverá ser realizada no parto eletivo antes de 39 semanas, mesmo nas gestações complicadas por diabetes bem controlado;
 - nas gestações entre 37-38 semanas, com fetos de peso < 4000g, bom controle metabólico materno e ausência de doença vascular, pode-se manter vigilância fetal e aguardar parto espontâneo até 42 semanas ou testar maturidade pulmonar fetal e, se positiva, iniciar indução do trabalho de parto;
 - nas gestações entre 37-38 semanas, com fetos de peso ≥ 4000 e < 4250g, deve-se confirmar maturidade pulmonar fetal e, se positiva, induzir o parto;
 - nas gestações entre 37-38 semanas, com fetos de peso ≥ 4250 g, deve-se confirmar maturidade pulmonar fetal e, se positiva, indicar cesárea.
-

A Maternidade do Hospital de Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu–Unesp (FMB–Unesp) é serviço de referência para gestações de alto risco materno e perinatal, incluindo as gestações complicadas pelo diabetes materno. A avaliação da maturidade pulmonar fetal faz parte do seu protocolo de assistência que, na década de 90, utilizava apenas o teste de azul de nilo (maturidade inespecífica) e os testes de Clements e DO_{650nm} (maturidade pulmonar específica). A partir de 2000, a técnica de CCL foi introduzida no Serviço e passou a fazer parte do protocolo de investigação da maturidade pulmonar fetal.

Especificamente para as gestações associadas ao diabetes ou à hiperglicemia leve, em uso de insulina, a rotina atual do Serviço inclui amniocentese no termo (idade gestacional ≥ 37 semanas) e, na confirmação de maturidade pulmonar fetal (Clements $+0,7$, $DO_{650nm} \geq 0,15$ e CCL $\geq 32000/\mu l$), resolução da gestação, independentemente do tipo de diabetes e da qualidade do controle metabólico materno. Mesmo nas situações em que se impõe a resolução da gestação no pré-termo, a amniocentese e a avaliação da maturidade pulmonar fetal são também realizadas, agora com o objetivo de prevenir a equipe neonatal para a recepção do recém-nascido – com maturidade pulmonar presente ou ausente.

Justificativa

Apesar dos avanços nos cuidados pré-natais, do crescimento científico e tecnológico da perinatologia e do advento do corticosteróide antenatal e da terapia de reposição de surfactante neonatal, a gestação complicada pelo diabetes continua sendo motivo de preocupação, tanto para o obstetra como para o neonatologista. Em nosso meio, a dificuldade em se obter o controle metabólico adequado na gestante diabética, aumenta o risco de complicações perinatais, de especial interesse a imaturidade pulmonar fetal e a ocorrência de SDR, favorecendo a morte neonatal. Associada a este fato, a realidade da saúde pública e dos hospitais universitários no Brasil é definida por falta de verbas, de equipamentos e de pessoal técnico especializado, o que dificulta o acesso às provas de avaliação da maturidade pulmonar fetal consideradas padrão-ouro e utilizadas nos países desenvolvidos.

Desde a década de 90, exatamente por falta de recursos financeiros, estas provas não são realizadas em nosso Serviço. Na tentativa de contornar tais deficiências, a CCL foi introduzida a partir de 2000, por ser considerado método de fácil execução, rápido e de baixo custo. Ainda que divulgada na literatura internacional, não há relato da experiência nacional com esta técnica, exceto por um único estudo ⁽³⁴⁾, mas de tamanho amostral menor que o incluído neste projeto.

Diante destas contradições e pelo interesse em avaliar o protocolo de conduta do Serviço, delineou-se este projeto de pesquisa, com as hipóteses de que (1) a avaliação da maturidade pulmonar fetal ainda tem suas indicações, principalmente naquelas gestações complicadas por diabetes de mais difícil controle metabólico; (2) a qualidade do controle glicêmico materno é fator determinante no processo de maturação pulmonar do filho de mãe diabética e (3) nestas gestações de risco, o desempenho diagnóstico da CCL é comparável aos testes de Clements e DO_{650nm}.



Este projeto, incluindo gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve, teve como **OBJETIVOS GERAIS:**

- Avaliar o desempenho de testes específicos de maturidade pulmonar fetal – Clements, DO_{650nm} e CCL.
- Determinar a influência da qualidade do controle glicêmico materno nos resultados dos testes específicos de maturidade pulmonar fetal – Clements, DO_{650nm} e CCL.

Foram **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Calcular os índices de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), acurácia e respectivos IC95% dos testes específicos de maturidade pulmonar fetal.
 - Comparar a acurácia dos testes específicos de maturidade pulmonar fetal.
 - Relacionar os valores da média glicêmica materna (MG), categorizada em adequada ou inadequada ^(5,64), aos resultados dos testes específicos de maturidade pulmonar fetal, nas gestações de termo e pré-termo.
-

Sujeitos e Métodos

Desenho do estudo

O projeto foi constituído por um estudo de validação dos testes de maturidade pulmonar fetal e por um estudo longitudinal para avaliar a

Crítérios de exclusão

- presença de sangue e/ou mecônio no líquido amniótico;
- gestação múltipla;
- terapia corticosteróide antenatal até sete dias antes do parto;
- malformações graves ou cromossomopatias no feto ou recém-nascido.

Coleta dos dados

Identificadas as gestantes portadoras de diabetes ou hiperglicemia leve, submetidas à amniocentese em até sete dias antes do parto, foram analisados os prontuários das mães e dos recém-nascidos, além dos resultados e das condições das provas de maturidade pulmonar fetal no líquido amniótico. Preenchidos os critérios de inclusão e exclusão, os dados de interesse foram anotados em ficha protocolar padronizada. Na presença de qualquer sinal clínico indicativo de desconforto respiratório, as radiografias de tórax dos recém-nascidos foram solicitadas no arquivo médico e revisadas pelo pesquisador.

Os dados protocolados foram submetidos à revisão da qualidade e legitimidade das informações, para corrigir eventuais erros, inconsistências ou lacunas e, sempre que necessário, os prontuários foram novamente revisados. A seguir, criou-se banco de dados no *software* Microsoft

Office Excel[®] (2003) e, para realização da análise estatística, os dados foram transportados e adaptados, sempre com as devidas conferências, para o *software* SPSS/Windows[®] (versão 10.0.5).

Variáveis e conceitos

No estudo de validação dos testes de maturidade pulmonar fetal, a presença de SDR neonatal foi definida como padrão-ouro. O diagnóstico de SDR foi baseado no quadro clínico e radiológico ⁽¹⁹⁻²¹⁾ e, de acordo com os critérios de Morrison, a doença foi classificada em graus de I a IV ⁽⁶⁵⁾.

No estudo da influência da qualidade do controle glicêmico na maturidade pulmonar fetal utilizou-se como variável independente a média glicêmica (MG) do terceiro trimestre de gestação, com início definido a partir de 26^{6/7} semanas, categorizada em adequada (MG \leq 120mg/dl) e inadequada (MG $>$ 120mg/dl) ⁽⁵⁾. A MG foi calculada pela média aritmética de todas as glicemias avaliadas nos PG semanais. Todas as determinações de glicose foram feitas pelo método glicose oxidase (Analisador de glicose II Beckmann, Fullerton[®], CA, USA). Os resultados dos testes de maturidade pulmonar – Clements, DO_{650nm} e CCL, foram avaliados como variáveis dependentes.

Alguns dados, previamente definidos, foram utilizados para caracterizar a população no estudo de validação dos testes diagnósticos e, estabelecidos como variáveis de controle, no estudo da influência da hiperglicemia materna na maturidade pulmonar fetal. Além da qualidade do

controle glicêmico materno, categorizada em adequada e inadequada ⁽⁵⁾, foram considerados:

- os distúrbios hiperglicêmicos, classificados em relação ao tipo de diabetes, em pré-gestacional ou clínico (tipo 1 ou tipo 2) e gestacional ^(2,8), às classes de Priscila White, em classes A ou A/B (diabetes gestacional), B ou C (diabetes clínico sem vasculopatia) e D a FRH (diabetes clínico com vasculopatia) ⁽³⁾ e, de acordo com os grupos de Rudge, em grupos IB (hiperglicemia leve), IIA (diabetes gestacional) e IIB (diabetes clínico ou gestacional) ⁽⁴⁾.

- os distúrbios hipertensivos maternos associados a estas gestações, classificados, de acordo com o protocolo do Serviço, em hipertensão arterial crônica (HAC), hipertensão gestacional (HG), pré-eclâmpsia (PE) e HAC com PE superajuntada (HAC+PE);

- a idade gestacional ao nascimento, calculada pela data da última menstruação (DUM), confirmada, na maioria dos casos, por ultrassonografia obstétrica precoce (até 20 semanas), comparada à avaliada pelo método de New Ballard ⁽⁶⁶⁾ ao nascimento e categorizada em termo (IG ≥ 37 semanas) e pré-termo (IG < 37 semanas). Como subcategorias da idade gestacional menor que 37 semanas definiu-se o pré-termo tardio (IG ≥ 34 e < 37 semanas), pré-termo (IG ≥ 31 e < 34 semanas) e pré-termo extremo (IG < 31 semanas) ^(67, 68). No estudo da influência da qualidade do controle glicêmico na maturidade pulmonar fetal os recém-nascidos com IG < 34 semanas foram excluídos.

Técnicas e Testes diagnósticos

Todas as amniocentese foram realizadas por punção trans-abdominal, guiada por ultra-sonografia, após antissepsia adequada. Foram colhidos cerca de 10ml de líquido amniótico (LA), imediatamente encaminhados para análise no laboratório clínico. O LA foi avaliado macroscopicamente quanto ao aspecto, transparente ou turvo, pela presença ou ausência de grumos e à cor, clara, amarelo-avermelhada ou esverdeada, pela ausência ou presença de contaminação por sangue, bilirrubina ou mecônio. Após isso, o conteúdo da amostra foi subdividido para a realização das provas de maturidade pulmonar – Clements, DO_{650nm} e CCL.

O teste de Clements foi realizado de acordo com técnica modificada da descrição original ⁽³¹⁾ e padronizada no Serviço ⁽³²⁾. Inclui (1) diluição do LA com soro fisiológico em volumes diferenciados, necessários para completar 1ml, em seis tubos de 14x100mm; (2) adição de 1 ml de álcool a 95° a cada tubo, que foram fechados com tampas de borracha e (3) agitação vigorosa e constante dos tubos por 15 segundos, deixando-os em repouso por 15 minutos, em superfície lisa e livre de vibração. Após este tempo foi feita a leitura do teste, considerando como resultado positivo a persistência de um anel contínuo e completo de bolhas na interface líquido/ar, a partir do tubo 4, ou seja, nas diluições 0,7ml; 0,6ml e 0,5ml ⁽³²⁾ (Quadro 1).

Quadro 1. Técnica do teste de Clements modificada ⁽³²⁾

	Tubos / Volumes					
	1	2	3	4	5	6
Líquido amniótico (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5
SF 0,9% (ml)	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Etanol 95% (ml)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0

A CCL foi realizada com 0,3ml de LA, em aparelho de automação para contagem de células sanguíneas (KX-21N[®], incluindo o *kit* de leitura da Roche[®]). Considerou-se maturidade pulmonar fetal quando a CCL foi igual ou maior que 32000/ μ l ⁽⁴⁷⁾.

A DO_{650nm} foi realizada com o restante do líquido, cerca de 7ml, após centrifugação a 2.500rpm, por 10 minutos. O sobrenadante foi colocado em tubo específico de leitura óptica em aparelho de espectrofotometria (Spectronic 88 - Bausch & Lomb[®]), no comprimento de onda de 650nm. Foi considerado resultado compatível com maturidade pulmonar fetal a diferença de densidade óptica igual ou maior que 0,15nm (DO_{650nm} \geq 0,15) ^(41, 57).

Análise estatística

Os dados demográficos e clínicos são apresentados por números e proporções.

No estudo de validação dos testes de maturidade pulmonar fetal, foram avaliados o desempenho dos testes – Clements, DO_{650nm} e CCL, na predição da SDR. Para isso foram calculados os índices de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia, com seus respectivos $IC_{95\%}$, de cada um dos testes, isolados e em associação. Considerou-se a presença de SDR como padrão-ouro e o limite de significância estatística de 95% ($p < 0,05$).

Na análise da influência da qualidade do controle glicêmico na maturidade pulmonar fetal foram avaliados o percentual de maturidade e as medianas e respectivos quartis de cada um dos testes – Clements, DO_{650nm} e CCL, em relação à média glicêmica (MG) do terceiro trimestre, adequada ($\leq 120\text{mg/dl}$) e inadequada ($> 120\text{mg/dl}$), discriminados na idade gestacional de termo (≥ 37 semanas) e pré-termo (≥ 34 e < 37 semanas). As proporções foram comparadas pelos testes do Qui-quadrado (χ^2) e exato de Fisher; as medianas, pelo teste de Mann-Whitney, considerando o limite de significância estatística de 95% (α ou $p < 0,05$).

Aspectos éticos

O projeto de pesquisa foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu–UNESP (CEP/FMB–UNESP) (anexo 1).

Referências Bibliográficas

1. Metzger BE, Cho NH, Brickman WJ. The rising tide of diabetes mellitus: implications for women of all ages. In: Reece EA, Coustan DR, Gabbe SG, editors. Diabetes in women Adolescence, pregnancy, and menopause. Third ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 7-26.

-
7. Calderon IM, Damasceno DC, Amorin RL, Costa RA, Brasil MA, Rudge MV. Morphometric study of placental villi and vessels in women with mild hyperglycemia or gestational or overt diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007 Mar 12.
 8. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2007;30(S1):42-7.
 9. Piazzze JJ, Anceschi MM, Maranghi L, Brancato V, Marchiani E, Cosmi EV. Fetal lung maturity in pregnancies complicated by insulin-dependent and gestational diabetes: a matched cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999 Apr;83(2):145-50.
 10. Lee AJ, Hiscock RJ, Wein P, Walker SP, Permezel M. Gestational Diabetes Mellitus: Clinical Predictors and Long-Term Risk of Developing Type 2 Diabetes: A retrospective cohort study using survival analysis. *Diabetes Care.* 2007 Apr;30(4):878-83.
 11. Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD, Ventura SJ, Menacker F, Kirmeyer S. Births: Final data for 2004. *National vital statistics reports.* Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics; 2006. p. 14.
 12. Rudge MVC, Calderon IMP, Ramos MD, Suetake H, Peraçoli JC. Investigaç o diagn stica do diabetes na gesta o. *Rev Bras Ginec Obstet.* 1996;18:21-6.
-

13. Tyrala EE. The infant of the diabetic mother. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1996 Mar;23(1):221-41.
 14. Jones CW. Gestational diabetes and its impact on the neonate. *Neonatal Netw.* 2001 Sep;20(6):17-23.
 15. Piper JM, Langer O. Does maternal diabetes delay fetal pulmonary maturity? *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Mar;168(3 Pt 1):783-6.
 16. Piper JM, Xenakis EM, Langer O. Delayed appearance of pulmonary maturation markers is associated with poor glucose control in diabetic pregnancies. *J Matern Fetal Med.* 1998 May-Jun;7(3):148-53.
 17. Piper JM. Lung maturation in diabetes in pregnancy: if and when to test. *Semin Perinatol.* 2002 Jun;26(3):206-9.
 18. Robert MF, Neff RK, Hubbell JP, Taeusch HW, Avery ME. Association between maternal diabetes and the respiratory-distress syndrome in the newborn. *N Engl J Med.* 1976 Feb 12;294(7):357-60.
 19. Lyra JC, De Luca AKC. Distúrbios Respiratórios do Recém-nascido. In: Departamento Pediatria, Faculdade Medicina Botucatu, editors. *Pediatria Clínica.* Petrópolis: EPUB; 2006. p. 73-7.
 20. Sinha S, Moya F, Donn SM. Surfactant for respiratory distress syndrome: are there important clinical differences among preparations? *Curr Opin Pediatr.* 2007 Apr;19(2):150-4.
-

-
21. Sweet D, Bevilacqua G, Carnielli V, Greisen G, Plavka R, Didrik Saugstad O, et al. European consensus guidelines on the management of neonatal respiratory distress syndrome. *J Perinat Med*. 2007;35(3):175-86.
 22. Grenache DG, Gronowski AM. Fetal lung maturity. *Clin Biochem*. 2006 Jan;39(1):1-10.
 23. Gluck L, Kulovich MV. Lecithin-sphingomyelin ratios in amniotic fluid in normal and abnormal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1973 Feb 15;115(4):539-46.
 24. Amon E, Lipshitz J, Sibai BM, Abdella TN, Whybrew MS, El-Nazer A. Quantitative analysis of amniotic fluid phospholipids in diabetic pregnant women. *Obstet Gynecol* 1986;68:373-8.
 25. Barros MCM. Assistência ao recém-nascido de mãe diabética. In: Kopelman BI, Santos AMN, Goulart AL, Almeida MFB, Miyoshi MH, Guinsburg R, editors. *Diagnóstico e tratamento em neonatologia*. São Paulo: Atheneu; 2004. p. 25-30.
 26. Delgado JC, Greene MF, Winkelman JW, Tanasijevic MJ. Comparison of disaturated phosphatidylcholine and fetal lung maturity surfactant/albumin ratio in diabetic and nondiabetic pregnancies. *Am J Clin Pathol*. 2000 Feb;113(2):233-9.
-

-
27. Moore TR. A comparison of amniotic fluid fetal pulmonary phospholipids in normal and diabetic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Apr;186(4):641-50.
 28. Lepercq J, Coste J, Theau A, Dubois-Laforgue D, Timsit J. Factors associated with preterm delivery in women with type 1 diabetes: a cohort study. *Diabetes Care.* 2004 Dec;27(12):2824-8.
 29. Kurkinen-Raty M, Koivisto M, Jouppila P. Preterm delivery for maternal or fetal indications: maternal morbidity, neonatal outcome and late sequelae in infants. *Bjog.* 2000 May;107(5):648-55.
 30. Gluck L, Kulovich MV, Borer RC, Jr., Brenner PH, Anderson GG, Spellacy WN. Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. *Am J Obstet Gynecol.* 1971 Feb 1;109(3):440-5.
 31. Clements JA, Platzker AC, Tierney DF, Hobel CJ, Creasy RK, Margolis AJ, et al. Assessment of the risk of the respiratory-distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. *N Engl J Med.* 1972 May 18;286(20):1077-81.
 32. Rudge MVC, Calderon IMP, Ramos MD, Peraçoli JC, Souza LMS, Bossolan G. Perfil fosfolipídico do líquido amniótico de gestantes diabéticas. *Rev Bras Ginec Obstet.* 1996;18:785-98.
-

-
33. Sher G, Statland BE, Freer DE, Kraybill EN. Assessing fetal lung maturation by the foam stability index test. *Obstet Gynecol.* 1978 Dec;52(6):673-7.
 34. Fernandes GL, Torloni MR, Klimke D, Hisaba WJ, Stivaletti J, Sancovski M, et al. Contagem de corpos lamelares versus teste de Clements na avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestantes diabéticas. *Rev Bras Ginec Obstet.* 2006;28(8):460-6.
 35. Khouzami VA, Beck JC, Johnson JW, Mitzner W, London WT. Amniotic fluid absorbance at 650 nm: a comparison with fetal lung maturity characteristics. *Am J Obstet Gynecol.* 1981 Sep 15;141(2):212-6.
 36. Khouzami VA, Beck JC, Sullivant H, Johnson JW. Amniotic fluid absorbance at 650 nm: its relationship to the lecithin/sphingomyelin ratio and neonatal pulmonary sufficiency. *Am J Obstet Gynecol.* 1983 Nov 1;147(5):552-6.
 37. Moodley S, Liu JH, Cherkis RC, Miller RK, Merrit TA, Whalen LE. Fetal pulmonary maturity: relationship between optical density (650 nm) to the lecithin/sphingomyelin ratio and phosphatidylglycerol in amniotic fluid. *Int J Gynaecol Obstet.* 1983 Jun;21(3):199-203.
 38. Tsai MY, Josephson MW, Knox GE. Absorbance of amniotic fluid at 650 nm as a fetal lung maturity test: a comparison with the lecithin/sphingomyelin ratio and tests for disaturated phosphatidylcholine and phosphatidylglycerol. *Am J Obstet Gynecol.* 1983 Aug 15; 146(8):963-6.
-

-
39. Turner RJ, Read JA. Practical use and efficiency of amniotic fluid OD 650 as a predictor of fetal pulmonary maturity. *Obstet Gynecol.* 1983 May;61(5):551-5.
 40. Koszalka MF, Jr., Blomquist CH, Lakatua DJ. Fetal lung maturity assessment by a modified A650 determination. *J Perinat Med.* 1986;14(1):35-41.
 41. Dubin SB. Determination of lamellar body size, number density, and concentration by differential light scattering from amniotic fluid: physical significance of A650. *Clin Chem.* 1988 May;34(5):938-43.
 42. Rohlfs EM, Chaing SH, Chapman JF. Analytical and clinical evaluation of refractive index-matched anomalous diffraction (RIMAD) for assessment of fetal lung maturation. *Clin Chem.* 1996 Nov;42(11):1861-8.
 43. Luz V, Ferreira RA, Saab Neto JA. Avaliação da maturidade pulmonar através da análise comparativa do Teste de Clements, Contagem de Corpos Lamelares e Relação Surfactante/Albumina no Líquido amniótico. *Arquivos Catarinenses de Medicina* 2003;32(3):37-42.
 44. Neerhof MG, Dohnal JC, Ashwood ER, Lee IS, Anceschi MM. Lamellar body counts: a consensus on protocol. *Obstet Gynecol.* 2001 Feb;97(2):318-20.
-

-
45. Dubin SB. Characterization of amniotic fluid lamellar bodies by resistive-pulse counting: relationship to measures of fetal lung maturity. *Clin Chem.* 1989 Apr;35(4):612-6.
 46. Ross GE, Bever FN, Uddin Z, Hockman EM, Herman BA. Decreased laboratory testing for lecithin-to-sphingomyelin ratio and phosphatidylglycerol after fetal lung maturity assessment from lamellar body count in amniotic fluid. *J Am Osteopath Assoc.* 2002 Aug; 102(8):423-8.
 47. 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):387-91.
 48. Bowie LJ, Shammo J, Dohnal JC, Farrell E, Vye MV. Lamellar body number density and the prediction of respiratory distress. *Am J Clin Pathol.* 1991 Jun;95(6):781-6.
 49. Ashwood ER, Palmer SE, Taylor JS, Pingree SS. Lamellar body counts for rapid fetal lung maturity testing. *Obstet Gynecol.* 1993 Apr;81(4):619-24.
 50. Fakhoury G, Daikoku NH, Benser J, Dubin NH. Lamellar body concentrations and the prediction of fetal pulmonary maturity. *Am J Obstet Gynecol.* 1994 Jan;170(1 Pt 1):72-6.
-

-
51. Dalence CR, Bowie LJ, Dohnal JC, Farrell EE, Neerhof MG. Amniotic fluid lamellar body count: a rapid and reliable fetal lung maturity test. *Obstet Gynecol.* 1995 Aug;86(2):235-9.
 52. 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):260-6.
 53. Lee IS, Cho YK, Kim A, Min WK, Kim KS, Mok JE. Lamellar body count in amniotic fluid as a rapid screening test for fetal lung maturity. *J Perinatol.* 1996 May-Jun;16(3 Pt 1):176-80.
 54. Beinlich A, Fischass C, Kaufmann M, Schlosser R, Dericks-Tan JS. Lamellar body counts in amniotic fluid for prediction of fetal lung maturity. *Arch Gynecol Obstet.* 1999;262(3-4):173-80.
 55. Roiz-Hernandez J, Navarro-Solis E, Carreon-Valdez E. Lamellar bodies as a diagnostic test of fetal lung maturity. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002 Jun;77(3):217-21.
 56. Chapman JF, Ashwood ER, Feld R, Wu AH. Evaluation of two-dimensional cytometric lamellar body counts on the ADVIA 120 hematology system for estimation of fetal lung maturation. *Clin Chim Acta.* 2004 Feb; 340(1-2):85-92.
-

57. Kjos SL, Walther FJ, Montoro M, Paul RH, Diaz F, Stabler M. Prevalence and etiology of respiratory distress in infants of diabetic mothers: predictive value of fetal lung maturation tests. *Am J Obstet Gynecol.* 1990 Sep;163(3):898-903.
 58. Berkowitz K, Reyes C, Saadat P, Kjos SL. Fetal lung maturation. Comparison of biochemical indices in gestational diabetic and nondiabetic pregnancies. *J Reprod Med.* 1997 Dec;42(12):793-800.
 59. DeRoche ME, Ingardia CJ, Guerette PJ, Wu AH, LaSala CA, Mandavilli SR. The use of lamellar body counts to predict fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Oct;187(4):908-12.
 60. Ghidini A, Spong CY, Goodwin K, Pezzullo JC. Optimal thresholds of the lecithin/sphingomyelin ratio and lamellar body count for the prediction of the presence of phosphatidyl glycerol in diabetic women. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002 Aug;12(2):95-8.
 61. Rosenn BM, Miodovnik M. Fetal biophysical and biochemical testing. In: Reece EA, Coustan DR, Gabbe SG, editors. *Diabetes in women: Adolescence, Pregnancy, and Menopause.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 335-44.
 62. Coustan DR. Delivery: timing, mode, and management. In: Reece EA, Coustan DR, Gabbe SG, editors. *Diabetes in women: adolescence, pregnancy, and menopause.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 433-40.
-

-
63. Langer O. Diagnosis and management of abnormal fetal growth. In: Reece EA, Coustan DR, Gabbe SG, editors. Diabetes in women: adolescence, pregnancy, and menopause. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 321-33.
 64. Rudge MVC, Calderon IMP, Ramos MD. Perspectiva perinatal decorrente do rígido controle pré-natal em gestações complicadas pelo diabete. Rev Bras Ginec Obstet. 1995;17:26-32.
 65. Morrison SC. Radiology findings of newborn respiratory diseases. In: Carlo WA, Chatburn RL, editors. Neonatal respiratory care. 2 ed. Chicago: Year Book Medical Publishers Inc.; 1988. p. 289-319.
 66. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. J Pediatr. 1991 Sep;119(3):417-23.
 67. Engle WA. A recommendation for the definition of "late preterm" (near-term) and the birth weight-gestational age classification system. Semin Perinatol. 2006 Feb;30(1):2-7.
 68. Raju TN, Higgins RD, Stark AR, Leveno KJ. Optimizing care and outcome for late-preterm (near-term) infants: a summary of the workshop sponsored by the National Institute of Child Health and Human Development. Pediatrics. 2006 Sep;118(3):1207-14.
-

Resultados

PRODUÇÃO CIENTÍFICA

Bolsas de Iniciação científica (3)

1_Título: "VALIDAÇÃO DA CONTAGEM DE CORPÚSCULOS LAMELARES (CCL) NA DETERMINAÇÃO DA MATURIDADE PULMONAR FETAL EM GESTAÇÕES COMPLICADAS PELO DIABETE"

Aluna: Érika Alves de Oliveira

Agência financiadora: CNPq/PIBIC; processo nº 109.601/2006-8; agosto2006 – julho2007 (11meses)

2_Título: VALIDAÇÃO DA CONTAGEM DE CORPÚSCULOS LAMELARES NA DETERMINAÇÃO DA MATURIDADE PULMONAR FETAL EM GESTAÇÕES DE RISCO

Aluna: Cristiane Yoshie Nakazawa

Agência financiadora: FAPESP; processo nº 06/06851-9; abril2007 – dezembro2007 (9meses)

3_Título: VALIDAÇÃO DA CONTAGEM DE CORPÚSCULOS LAMELARES NA DETERMINAÇÃO DA MATURIDADE PULMONAR FETAL EM GESTAÇÕES DE RISCO

Aluna: Beatriz Camargo Azevedo

Agência financiadora: FAPESP; processo nº 06/06971-9; abril2007 – dezembro2007 (9 meses)

Apresentação de trabalhos (3)

1_DESEMPENHO DOS TESTES DE CLEMENTS, DENSIDADE ÓPTICA 650nm E CONTAGEM DE CORPÚSCULOS LAMELARES EM GESTAÇÕES COMPLICADAS POR DIABETE OU HIPERGLICEMIA LEVE. Oliveira EA, De Luca AKC, Nakazawa CY, Costa RAA, Calderon IMP. XII Congresso Paulista de Obstetrícia e Ginecologia / SOGESP; São Paulo, agosto2007. (O-146)

2_INFLUÊNCIA DA QUALIDADE DO CONTROLE GLICÊMICO NA MATURIDADE PULMONAR FETAL EM GESTAÇÕES DE TERMO OU PRÉ-TERMO TARDIO, COMPLICADAS POR DIABETE OU HIPERGLICEMIA LEVE. Nakazawa CY, Azevedo BC, De Luca AKC, Costa RAA, Calderon IMP. XII Congresso Paulista de Obstetrícia e Ginecologia / SOGESP; São Paulo, agosto2007. (O-166)

3_DESEMPENHO DOS TESTES DE MATURIDADE PULMONAR FETAL – CLEMENTS, DO_{650nm} E CCL EM GESTAÇÕES DE RISCO. Azevedo BC, Oliveira EA, Nakazawa CY, Costa

ARTIGO 1

Clements' test, optical density at 650nm (OD_{650nm}) and lamellar body count (LBC) for the prediction of fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes and mild hyperglycemia

Ana Karina Cristiuma De Luca^a, Erika Alves de Oliveira^b, Lígia Maria S.S. Rugolo^a, Roberto Antonio de Araújo Costa^b, Iracema de Mattos Paranhos Calderon^b

Department of Pediatrics^a

Department of Gynecology and Obstetrics^b

Botucatu Medical School/São Paulo State University-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil

Correspondence and reprint requests:

Ana Karina Cristiuma De Luca

Department of Pediatrics

Botucatu Medical School/São Paulo State University-UNESP

Distrito Rubião Júnior- Campus Botucatu

18600-000 Botucatu, SP, Brazil

Telephone: +55-14-38116274

e-mail: anakarina@fmb.unesp.br

Padronizado de acordo com as normas de publicação da revista:

International Journal of Gynecology and Obstetrics

Clements' test, optical density at 650nm (OD_{650nm}) and lamellar body count (LBC) for the prediction of fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes and mild hyperglycemia

A.K.C. De Luca^a, E.A. Oliveira^b, L.M.S.S. Rugolo^a, R.A.A. Costa^b, I.M.P. Calderon^b

Department of Pediatrics^a, Botucatu Medical School/São Paulo State University-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil

Department of Gynecology and Obstetrics^b, Botucatu Medical School/São Paulo State University-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil

Abstract

Objectives: To evaluate the performance of the test of Clements, OD_{650nm} and LBC in pregnancies complicated by diabetes or mild hyperglycemia. **Methods:** This study aimed at validating diagnostic tests included 192 pregnant women and their babies. The women were submitted to routine amniocentesis for the assessment of fetal lung maturity up to 72 hours before delivery. Exclusion criteria were: amniotic fluid contaminated with blood and/or meconium; multiple gestation; prenatal corticosteroid therapy within seven days before delivery; and newborn exhibiting severe malformations or chromosomopathies. Fetal lung maturity thresholds were; Clements-positive at a dilution of 0.7; OD_{650nm} ≥0.15; and LBC ≥32000/μl. For each test alone or in combination, sensitivity and specificity rates, PPV, NPV and accuracy were determined considering RDS as the gold-standard. **Results:** Of 192 pregnant women, 74(38.5%) had clinical diabetes, 92(47.9%) had gestational diabetes, and 26(13.5%) had mild hyperglycemia. Glycemic control was adequate in 150 (78.1%) women. Three cases (1.6%) of RDS were observed. Sensitivity and NPV were 100% in all tests. Specificity and accuracy rates were, respectively, 85.9% and 86.2% (81.2;91.1) for the test of Clements; 90.9 % and 91.0% (86.0;95.1) for OD_{650nm}; 94.2% and 94.3% (91.0; 97.6) for LBC. PPV was low in the all three tests (test of Clements = 10.3%; OD_{650nm}=15.0%; LBC =21.4%). **Conclusions:** All tests were good predictors of RDS. OD_{650nm} and LBC were comparable and better than the test of Clements, which should not be used alone. The cost-benefit rate of LBC ≥32000/μl justifies its isolated use as a screening test for fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes or mild hyperglycemia.

Key words: fetal lung maturity; diabetes in pregnancy; respiratory distress syndrome; amniocentesis; Clements' test (shake test); optical density at 650nm; lamellar body count

Teste de Clements, densidade óptica a 650_{nm} e contagem de corpúsculos lamelares na predição da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve

A.K.C. De Luca^a, E.A. Oliveira^b, L.M.S.S. Rugolo^a, R.A.A. Costa^b, I.M.P. Calderon^b

Departamento de Pediatria^a, Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

Departamento de Ginecologia e Obstetrícia^b, Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

Resumo

Objetivos: Avaliar o desempenho dos testes de Clements, DO₆₅₀ e CCL em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. **Métodos:** Estudo de validação de teste diagnóstico. Foram incluídas 192 gestantes, e respectivos recém-nascidos, submetidas à amniocentese, de rotina, para avaliação da maturidade pulmonar fetal, até 72 horas antes do parto. Foram excluídos, líquido amniótico contaminado por sangue e/ou mecônio; gestação múltipla; terapia corticosteroíde antenatal até sete dias antes do parto e malformações graves ou cromossomopatias no recém-nascido. Considerou-se como limite de maturidade pulmonar fetal, Clements positivo a partir da diluição 0,7ml; DO_{650nm} ≥0,15 e CCL ≥32000/μl. Foram avaliados os índices de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia dos três testes, isolados e em associação, estabelecendo a Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) como padrão ouro. **Resultados:** Das 192 gestantes, 74 (38,5%) eram diabéticas clínicas, 92 (47,9%) gestacionais e 26 (13,5%) tinham hiperglicemia leve. O controle glicêmico foi adequado em 150 (78,1%). Houve três casos de SDR (1,6%). Todos os testes apresentaram sensibilidade e VPN de 100%. A especificidade do Clements foi de 85,9%, com acurácia de 86,2% (81,2; 91,1); a DO_{650nm} apresentou especificidade de 90,9% e acurácia de 91,0% (86,9; 95,1); na CCL foi observada especificidade de 94,2% e acurácia de 94,3% (91,0; 97,6). O VPP foi baixo nos três testes, respectivamente, 10,3; 15,0 e 21,4%. **Conclusões:** Os testes tiveram bom desempenho na predição da SDR. A DO_{650nm} e a CCL foram comparáveis e melhores que o Clements, que não deve ser usado de forma isolada. O custo-benefício da CCL ≥32000/μl justifica seu emprego isolado como triador da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve.

Palavras-chave: maturidade pulmonar fetal; diabetes na gravidez; síndrome do desconforto respiratório; amniocentese; teste de Clements; densidade óptica a 650nm; contagem de corpúsculos lamelares

1. Introdução

A morbidade pulmonar neonatal do filho de mãe diabética foi amplamente reconhecida nas últimas décadas. A síndrome do desconforto respiratório (SDR) já acometeu 20 vezes mais esses recém-nascidos do que os provenientes de uma gestação normal (1). A exata explicação para o atraso na maturidade pulmonar fetal de filhos de mães diabéticas permanece pouco esclarecida. Alguns investigadores sugerem que a hiperglicemia e o hiperinsulinismo fetal seriam os responsáveis por essa alteração, pela inibição de enzimas necessárias para a síntese dos fosfolípidios, componentes do surfactante pulmonar (2).

O atraso na maturidade pulmonar fetal parece estar relacionado com o controle metabólico materno. Vários estudos demonstraram que em gestações complicadas por diabete, com controle metabólico adequado, não ocorre atraso na produção e qualidade do surfactante pulmonar e, portanto, o recém-nascido teria o mesmo risco para desenvolver SDR que uma gestação não-diabética (3-6). O controle metabólico materno ideal nem sempre é alcançado, daí a validade de se confirmar maturidade pulmonar fetal nestas gestações.

Os testes considerados padrão-ouro para avaliação da maturidade pulmonar fetal são a relação lecitina/esfingomielina (L/E) e a dosagem de fosfatidilglicerol. No entanto, esses exames demandam tempo, técnica e aparelho especializados, o que eleva o custo e dificulta sua aplicação na prática clínica. O teste de Clements continua sendo opção rápida, de fácil

realização e baixo custo (7). A densidade óptica a 650nm (DO_{650nm}), apesar de pouca utilizada atualmente, é descrita como exame de boa sensibilidade e especificidade e, também, de menor custo (8).

Nos últimos anos, a literatura passou a divulgar a contagem de corpúsculos lamelares (CCL) como alternativa econômica, de desempenho similar, ou melhor, que a relação L/E na predição da maturidade pulmonar fetal (7). Os pneumócitos tipo II sintetizam os fosfolípidios constituintes do surfactante pulmonar, que são armazenados na forma de estruturas denominadas corpúsculos lamelares. Esses corpúsculos aparecem no citoplasma dos pneumócitos entre a 20^a e 24^a semanas e aumentam em número e tamanho com o desenrolar da gestação. São continuamente secretados para o interior do alvéolo e entram em contacto com o líquido amniótico por exsudação e movimentos respiratórios do feto. Têm tamanho semelhante ao das plaquetas e, por isso, podem ser quantificados em aparelhos de automação para contagem de células sanguíneas (9).

Via de regra, os protocolos de renomados serviços especializados concordam que a avaliação da maturidade pulmonar fetal nas gestações complicadas por diabetes auxilia na decisão do momento do parto. Entretanto, são omissos em relação ao melhor teste e controversos nos critérios de maturidade ou imaturidade pulmonar fetal (10-12).

O objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho dos testes de avaliação da maturidade pulmonar fetal – teste de Clements, DO_{650nm} e CCL em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve.

2. Sujeitos e Métodos

O projeto foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu–UNESP.

Foram incluídas gestantes portadoras de diabetes ou hiperglicemia leve, submetidas à amniocentese para avaliação da maturidade pulmonar fetal e respectivos recém-nascidos, atendidos no Serviço de Diabetes e Gravidez da Faculdade de Medicina de Botucatu–UNESP, entre fevereiro de 2000 e dezembro de 2005. Delineou-se estudo de validação de testes de avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. O diagnóstico e a classificação do diabetes na gestação seguiram os critérios da *American Diabetes Association* (13). A hiperglicemia leve foi caracterizada por resposta normal no teste oral de tolerância à glicose (TTG_{100g}) e alterada no perfil glicêmico (PG) (14,15). Foram critérios de inclusão, gestante portadora de hiperglicemia leve ou diabetes, pré-gestacional (tipo 1 ou 2) ou gestacional; amniocentese com intervalo máximo de 72 horas do parto e recém-nascido vivo. Os critérios de exclusão foram definidos por presença de contaminantes no líquido amniótico – sangue e/ou mecônio; gestação múltipla; terapia corticosteróide antenatal até sete dias antes do parto e malformações graves ou cromossomopatias no recém-nascido. Considerando-se esses critérios, a amostra avaliada foi de 192 pares de mães e recém-nascidos.

A Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) no recém-nascido foi definida como padrão-ouro na validação dos testes de maturidade pulmonar fetal. O diagnóstico de SDR foi confirmado por quadro clínico e alterações radiológicas compatíveis (16). Esse dado foi obtido do prontuário do recém-nascido, revisado e confrontado com as respectivas radiografias de tórax pelo neonatologista, com concordância em todos os casos registrados.

A idade gestacional foi calculada pela data da última menstruação (DUM), confirmada por ultra-sonografia obstétrica precoce, na maioria dos casos, e comparada com a avaliada pelo método de New Ballard (17) ao nascimento. Foi categorizada em termo (IG ≥ 37 semanas), pré-termo tardio (IG ≥ 34 e < 37 semanas), pré-termo (IG ≥ 31 e < 34 semanas) e pré-termo extremo (IG < 31 semanas) (18).

A média glicêmica (MG) foi calculada pela média aritmética de todas as glicemias avaliadas nos PG semanais do terceiro trimestre de gestação (a partir de 26^{6/7} semanas). Essa MG foi categorizada em adequada quando ≤ 120 mg/dl e inadequada se > 120 mg/dl (14). As determinações de glicose plasmática foram feitas pelo método glicose oxidase (analisador de glicose II Beckmann, Fullerton[®], CA, USA).

Os distúrbios hipertensivos maternos associados a essas gestações foram classificados em hipertensão arterial crônica (HAC), hipertensão gestacional (HG), pré-eclâmpsia (PE) e HAC com pré-eclâmpsia superajuntada (HAC+PE), conforme protocolo do Serviço.

As amniocentese foram realizadas por punção trans-abdominal, guiada por ultra-sonografia, após antissepsia adequada. Foram colhidos cerca de 10ml de líquido amniótico (LA), imediatamente encaminhados para análise no laboratório clínico. Antes das provas de maturidade pulmonar – teste de Clements, DO_{650nm} e CCL, o LA foi avaliado quanto ao aspecto/cor, para identificar a presença de grumos e possível contaminação por sangue ou mecônio.

O teste de Clements foi realizado de acordo com técnica modificada padronizada no Serviço. Inclui diluição dos volumes diferenciados (1,0; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6 e 0,5ml) de LA, distribuídos em seis tubos de 14x100mm, com soro fisiológico em volumes suficientes para completar 1ml, adição de 1 ml de álcool a 95° a cada tubo, fechados com tampas de borracha, e agitação vigorosa dos tubos por 15 segundos, deixando-os em repouso por 15min. Após este tempo, a persistência de um anel contínuo e completo de bolhas na interface líquido/ar, a partir do tubo 4, ou seja, nas diluições 0,7ml; 0,6ml e 0,5ml, foi considerado resultado positivo, indicativo de maturidade pulmonar (19). A CCL foi realizada com 0,3ml de LA, em aparelho de automação para contagem de células sanguíneas (KX-21N[®], incluindo o *kit* de leitura da Roche[®]). Considerou-se maturidade pulmonar fetal quando a CCL foi igual ou maior que 32000/ μ l (20). A DO_{650nm} foi realizada com o restante do LA, cerca de 7ml, após centrifugação a 2.500rpm, por 10 minutos. O sobrenadante foi colocado em tubo específico de leitura óptica em aparelho de espectrofotometria (Spectronic 88 - Bausch & Lomb[®]), no comprimento de

onda de 650nm. Considerou-se resultado positivo a diferença de densidade óptica igual ou maior que 0,15 nm ($DO_{650nm} \geq 0,15$) (21).

Para avaliação do desempenho dos testes – Clements, DO_{650nm} e CCL, na predição da SDR, foram calculados os índices de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia, com seus respectivos $IC_{95\%}$, de cada um dos testes, isolados e em associação. Considerou-se a presença de SDR como padrão-ouro e o limite de significância estatística de 95% ($p < 0,05$).

3. Resultados

Das 192 gestações complicadas por diabete ou hiperglicemia leve avaliadas, 38,5% eram de diabéticas clínicas, com 29,7% de vasculopatia associada (classes D a FR de Priscila White), 47,9% de diabéticas gestacionais e 13,5% de hiperglicemia leve. A maioria era de termo (71,9%), 25,5% estavam entre 34 e 37 semanas e 2,6% tinham idade gestacional menor ou igual a 34 semanas. O controle glicêmico foi adequado em 78,1% e os distúrbios hipertensivos se associaram a 33,9% dos casos (Tabela 1). A confirmação de três casos de SDR correspondeu à incidência de 1,6%, todos previstos pelos testes de avaliação de maturidade pulmonar fetal (Tabela 2).

Os testes avaliados, Clements, DO_{650nm} e CCL, mostraram bom desempenho para predizer risco de SDR, com sensibilidade e VPN de 100,0%. Em valores absolutos, o teste de Clements apresentou os menores índices de especificidade, VPP e acurácia, em relação aos demais. A $DO_{650nm} \geq 0,15$ demonstrou especificidade de 90,9%, VPP de 15,0% e 91,0% de acurácia. A $CCL \geq 32000/\mu l$ resultou em 94,2% de especificidade, 21,4% de VPP e 94,3% de acurácia (Tabelas 3 e 4). Os limites dos $IC_{95\%}$ de especificidade e acurácia mostraram sobreposição dos intervalos entre os testes, isolados ou em associação, à exceção do teste de Clements, com limite inferior às associações testadas (Figura 1).

Tabela 1. Características da população

Características	Frequência	%
Tipo de Diabetes		
Tipo 1	36	21,7
Tipo 2	38	22,9
Gestacional	92	55,4
Total	166	100,0
Classes de P. White		
A e A/B	92	55,4
B e C	52	31,3
D a FR	22	13,3
Total	166	100,0
Grupos de Rudge		
IB	26	13,5
IIA	03	1,6
IIB	163	84,9
Total	192	100,0
Controle Glicêmico		
Adequado (≤ 120 mg/dl)	150	78,1
Inadequado (> 120 mg/dl)	42	21,9
Total	192	100,0
Hipertensão Arterial		
HAC	33	17,2
HG	17	8,9
PE	10	5,2
HAC+PE	05	2,6
Total	65	33,9
Idade Gestacional		
≤ 34 sem	5	2,6
34–37sem	49	25,5
≥ 37 sem	138	71,9
Total	192	100

Tabela 2. Características dos casos de SDR

	Características		
	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Tipo de SDR	grau 3	grau 2	grau 2
Surfactante exógeno	sim	não	não
Óbito neonatal	não	não	sim
IG no parto (semanas)	34 ^{5/7}	33	35
Peso (g) / sexo RN	2655 / F	2180 / M	2090 / F
Tipo / classe diabete	DM1 / C	DM1 / C	DM2 / F
MG (mg/dl)	135,7	108,1	103,0
Clements	>0,7	>0,7	>0,7
DO_{650nm}	0,08	0,12	0,05
CCL (corpúsculos/μl)	5000	13000	1000

Tabela 3. Resultados dos testes – Clements, DO_{650nm} e CCL, na predição de risco para SDR

	SDR		Total
	Presente	Ausente	
Clements			
Negativo (>0,7)	3	26	29
Positivo (\leq 0,7)	0	159	159
Total ^(*)	3	185	188
DO_{650nm}			
Negativo (<0,15)	3	17	20
Positivo (\geq 0,15)	0	169	169
Total ^(*)	3	186	189
CCL			
Negativo (<32000/ μ l)	3	11	14
Positivo (\geq 32000/ μ l)	0	178	178
Total	3	189	192

(*) provas não realizadas – Clements = 4 casos; DO_{650nm} = 3 casos

Tabela 4. Desempenho dos testes – Clements, DO_{650nm} e CCL, na predição de risco para SDR

	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Acurácia
Clements	100,00	85,94	10,34	100,00	86,17
DO_{650nm}	100,00	90,86	15,00	100,00	91,00
CCL	100,00	94,17	21,42	100,00	94,27
Clements+DO_{650nm}	100,00	93,98	21,42	100,00	94,08
Clements+CCL	100,00	94,59	23,07	100,00	94,68
DO_{650nm}+CCL	100,00	96,77	33,33	100,00	96,82
Clem.+DO_{650nm}+CCL	100,00	96,72	33,33	100,00	96,77

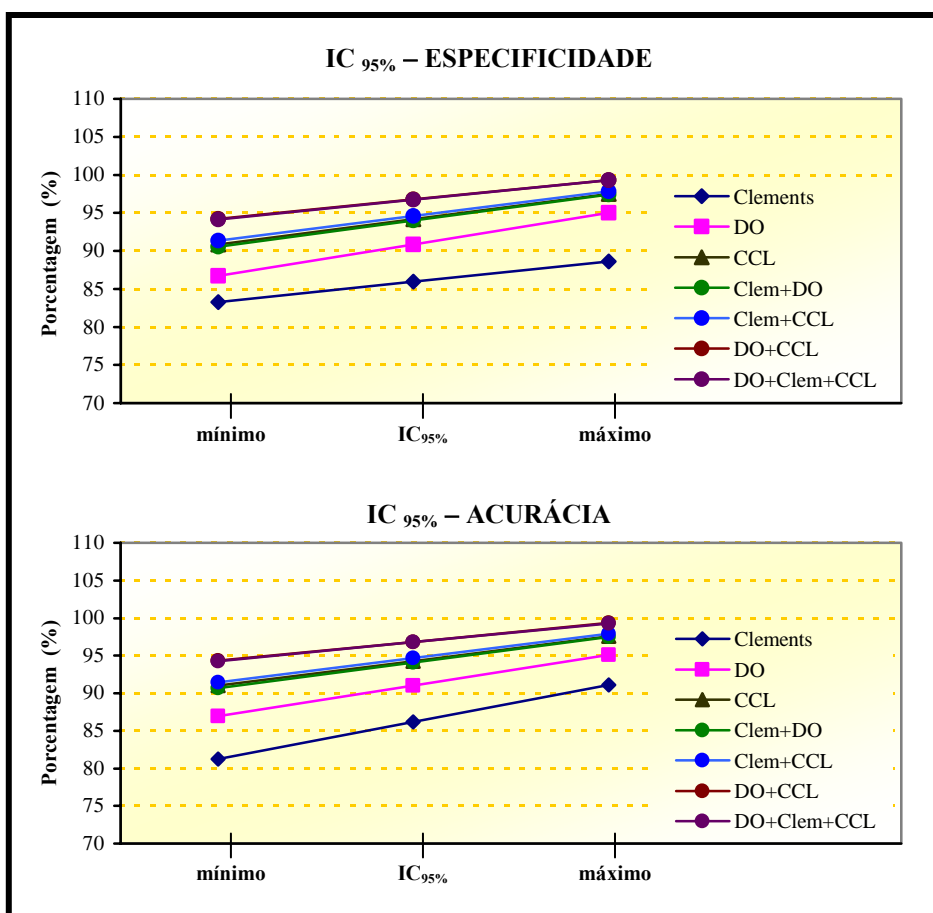


Figura 1. Intervalos de confiança a 95% (IC_{95%}) da Especificidade e da Acurácia dos testes – Clements, DO_{650nm} e CCL, na predição de risco para SDR

4. Discussão

As provas de maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ainda não estão definidas na literatura. A grande maioria dos autores as inclui em seus protocolos de conduta, especialmente nas gestações com controle metabólico materno inadequado. Entretanto, há divergências nos pontos de corte e nos testes utilizados, além das limitações dos vários serviços. Assim, a avaliação crítica de protocolos específicos é sempre interessante e resulta em benefícios para o prognóstico materno-fetal.

Neste estudo, os três testes de maturidade pulmonar fetal avaliados – Clements, DO_{650nm} e CCL tiveram desempenho bom e bastante semelhante na predição de risco para SDR nas gestações complicadas por diabetes e hiperglicemia leve. Os índices de 100,0% de sensibilidade e VPP, com especificidade e acurácia variando de 85 a 95,0%, demonstraram que com a utilização desses testes no protocolo do Serviço consegue-se diferenciar o feto de risco daquele com maturidade pulmonar e, portanto, sem risco de desenvolver SDR. Isso deve ter influenciado na baixa incidência de SDR nesses recém-nascidos observada nos últimos anos, não atingindo 2,0%, pela possibilidade de prever o risco da doença e adiar o parto sempre que possível. Para a nossa realidade, com limitação de recursos e necessidade de contenção de custos, esse resultado já seria suficiente.

A impossibilidade de comparar o desempenho destes três testes com o considerado padrão-ouro (relação L/E, fosfatidilglicerol) e a ocorrência de apenas três casos de SDR foram fatores limitantes na

interpretação dos resultados. A literatura já discute o emprego de testes de menor custo e facilidade técnica em substituição à relação L/E e à dosagem de fosfatidilglicerol, os quais seriam reservados para definição dos casos inconclusivos (22). O pequeno número de casos de SDR limitou o poder estatístico dos elevados índices de sensibilidade (100,0%) observados, indicando a necessidade de usar os limites dos IC_{95%} de especificidade e acurácia para diferenciar o desempenho dos três testes. Quando avaliados de forma isolada, todos os testes apresentaram limites superponíveis, insuficiente para definir o melhor deles. Entretanto, o teste de Clements, aplicado isoladamente, apresentou o menor limite de IC_{95%}, quando comparado às associações dos testes, especialmente, DO_{650nm}+CCL, sugerindo desvantagem dele no desempenho diagnóstico.

A performance do teste de Clements pode estar relacionada à própria técnica, dependente de execução e de interpretação humana. No entanto, a rapidez e a facilidade técnica, aliada a treinamento profissional adequado, poderão melhorar o desempenho diagnóstico e beneficiar a assistência nos locais onde outros testes não sejam disponíveis. Em gestações de alto risco, como nas complicadas por diabetes, um teste simples, rápido, e de baixo custo pode ser de grande utilidade, principalmente nos países em desenvolvimento (9).

A DO_{650nm} e a CCL, apesar do melhor desempenho quando associados, teriam a desvantagem da limitação de recursos, pois nem todos os serviços possuem espectrofotômetro ou aparelho de automação para contagem de células. De acordo com a literatura, a CCL levaria vantagem, pois

custa tanto quanto uma contagem de células sanguíneas e menos que a metade de uma relação L/E (23). Adotando-se a CCL como teste alternativo de avaliação da maturidade pulmonar fetal, estima-se queda aproximada de 9,8 milhões de dólares/ano nos gastos hospitalares (22).

Os valores de corte para a CCL têm sido discutidos na literatura e um consenso recente sugere o *cutoff* de $\geq 50000/\mu\text{l}$ (24), superior ao utilizado neste estudo ($\geq 32000/\mu\text{l}$), recomendado por Lewis et al (20). Nesse limite, os resultados aqui observados demonstraram especificidade do teste comparável aos avaliados no estudo original (20) e maiores que os descritos por Abd El Aal et al. (9), com *cutoff* $\geq 41000/\mu\text{l}$. Além disso, nossos índices de especificidade e acurácia foram semelhantes, ou até superiores, aos descritos em estudos específicos para gestantes diabéticas, com pontos de corte mais rigorosos, $\geq 50000/\mu\text{l}$ (25) e $\geq 37000/\mu\text{l}$ (26).

A maioria dos estudos (9, 19, 20) não é exclusiva de gestantes diabéticas. Entretanto, as características da amostra aqui incluída – 192 casos, apenas cinco prematuros com IG ≤ 34 semanas, controle glicêmico adequado em 78,1% das gestações (3-6) e, sobretudo, a proporção de hipertensão arterial (34,0%) e vasculopatia diabética (13,3%) (6, 27), contribuíram para o prognóstico clínico e reforçaram que o ponto de corte de CCL $\geq 32000/\mu\text{l}$ foi adequado e suficiente, também, para as gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve.

Em síntese, os três testes avaliados – Clements, DO_{650nm} e CCL, e respectivos pontos de corte, tiveram bom desempenho na predição e prevenção da SDR, reforçando que não há necessidade de critérios diferenciados para a população de gestantes diabéticas ou portadoras de hiperglicemia leve. A DO_{650nm} e a CCL mostraram desempenho estatisticamente comparáveis entre si e, se aplicados em associação, superaram o teste de Clements, que não deve ser utilizado isoladamente. Considerando a praticidade, o baixo custo e o desempenho diagnóstico da $CCL \geq 32000/\mu l$, o custo-benefício justifica o seu uso isolado como preditor de maturidade pulmonar fetal, também nestas gestações.

Do ponto de vista prático, nas gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve, a CCL deve ser usada de forma isolada como rastreador do risco de SDR e, nos resultados inconclusivos ou *borderline*, associada a outros testes de avaliação de maturidade pulmonar fetal.

5. Referências

1. Moore TR. A comparison of amniotic fluid fetal pulmonary phospholipids in normal and diabetic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Apr;186(4):641-50.
 2. Jones CW. Gestational diabetes and its impact on the neonate. *Neonatal Netw.* 2001 Sep;20(6):17-23.
 3. Piper JM, Langer O. Does maternal diabetes delay fetal pulmonary maturity? *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Mar;168(3 Pt 1):783-6.
 4. Piper JM, Xenakis EM, Langer O. Delayed appearance of pulmonary maturation markers is associated with poor glucose control in diabetic pregnancies. *J Matern Fetal Med.* 1998 May-Jun;7(3):148-53.
 5. Piazzze JJ, Anceschi MM, Maranghi L, Brancato V, Marchiani E, Cosmi EV. Fetal lung maturity in pregnancies complicated by insulin-dependent and gestational diabetes: a matched cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999 Apr;83(2):145-50.
 6. Piper JM. Lung maturation in diabetes in pregnancy: if and when to test. *Semin Perinatol.* 2002 Jun;26(3):206-9.
 7. Grenache DG, Gronowski AM. Fetal lung maturity. *Clin Biochem.* 2006 Jan;39(1):1-10.
-

8. Rohlfs EM, Chaing SH, Chapman JF. Analytical and clinical evaluation of refractive index-matched anomalous diffraction (RIMAD) for assessment of fetal lung maturation. *Clin Chem*. 1996 Nov;42(11):1861-8.
 9. Abd El Aal DE, Elkhirshy AA, Atwa S, El-Kabsh MY. Lamellar body count as a predictor of neonatal lung maturity in high-risk pregnancies. *Int J Gynaecol Obstet*. 2005 Apr;89(1):19-25.
 10. Coustan DR. Delivery: timing, mode, and management. In: Reece EA, Coustan DR, Gabbe SG, editors. *Diabetes in women: adolescence, pregnancy, and menopause*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 433-40.
 11. Langer O. Diagnosis and management of abnormal fetal growth. In: Reece EA, Coustan DR, Gabbe SG, editors. *Diabetes in women: adolescence, pregnancy, and menopause*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 321-33.
 12. Rosenn BM, Miodovnik M. Fetal biophysical and biochemical testing. In: Reece EA, Coustan DR, Gabbe SG, editors. *Diabetes in women: Adolescence, Pregnancy, and Menopause*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 335-44.
 13. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 2007;30(S1):42-7.
-

14. Rudge MV, Calderon IM, Ramos MD, Abbade JF, Rugolo LM. Perinatal outcome of pregnancies complicated by diabetes and by maternal daily hyperglycemia not related to diabetes. A retrospective 10-year analysis. *Gynecol Obstet Invest.* 2000;50(2):108-12.
 15. Calderon IM, Damasceno DC, Amorin RL, Costa RA, Brasil MA, Rudge MV. Morphometric study of placental villi and vessels in women with mild hyperglycemia or gestational or overt diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007 Mar 12.
 16. Sweet D, Bevilacqua G, Carnielli V, Greisen G, Plavka R, Didrik Saugstad O, et al. European consensus guidelines on the management of neonatal respiratory distress syndrome. *J Perinat Med.* 2007;35(3):175-86.
-

20. 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):387-91.
 21. Kjos SL, Walther FJ, Montoro M, Paul RH, Diaz F, Stabler M. Prevalence and etiology of respiratory distress in infants of diabetic mothers: predictive value of fetal lung maturation tests. *Am J Obstet Gynecol.* 1990 Sep;163(3):898-903.
 22. Ross GE, Bever FN, Uddin Z, Hockman EM, Herman BA. Decreased laboratory testing for lecithin-to-sphingomyelin ratio and phosphatidylglycerol after fetal lung maturity assessment from lamellar body count in amniotic fluid. *J Am Osteopath Assoc.* 2002 Aug;102(8):423-8.
 23. 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):260-6.
 24. Neerhof MG, Dohnal JC, Ashwood ER, Lee IS, Anceschi MM. Lamellar body counts: a consensus on protocol. *Obstet Gynecol.* 2001 Feb;97(2):318-20.
 25. Fernandes GL, Torloni MR, Klimke D, Hisaba WJ, Stivaletti J, Sancovski M, et al. Contagem de corpos lamelares versus teste de Clements na avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestantes diabéticas. *Rev Bras Ginec Obstet.* 2006;28(8):460-6.
-

26. DeRoche ME, Ingardia CJ, Guerette PJ, Wu AH, LaSala CA, Mandavilli SR. The use of lamellar body counts to predict fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Oct;187(4):908-12.

 27. Berkowitz K, Reyes C, Saadat P, Kjos SL. Fetal lung maturation. Comparison of biochemical indices in gestational diabetic and nondiabetic pregnancies. *J Reprod Med.* 1997 Dec;42(12):793-800.
-

ARTIGO 2

Influence of glycemic control on fetal lung maturity in gestations complicated by diabetes or mild hyperglycemia

Ana Karina Cristiuma De Luca¹, Cristiane Yoshie Nakazawa², Beatriz Camargo Azevedo², Marilza Vieira Cunha Rudge², Roberto Antonio de Araújo Costa² and Iracema de Mattos Paranhos Calderon²

*Department of Pediatrics*¹

*Department of Gynecology and Obstetrics*²

Botucatu Medical School/São Paulo State University-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil

Correspondence and reprint requests:

Ana Karina Cristiuma De Luca

Department of Pediatrics

Botucatu Medical School/São Paulo State University-UNESP

Distrito Rubião Júnior- Campus Botucatu

18600-000 Botucatu, SP, Brazil

Telephone: +55-14-38116274

e-mail: anakarina@fmb.unesp.br

Padronizado de acordo com as normas de publicação da revista:

Acta Obstetricia Gynecologica Scandinavica

Influence of glycemic control on fetal lung maturity in gestations complicated by diabetes or mild hyperglycemia

Ana Karina C. De Luca¹, Cristiane Y. Nakazawa², Beatriz C. Azevedo², Marilza V. C. Rudge², Roberto A. A. Costa² and Iracema M. P. Calderon²

From the ¹Department of Pediatrics and ²Department of Obstetrics and Gynecology, Botucatu Medical School/São Paulo State University-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brazil

Background. Maternal hyperglycemia favors delay in fetal lung maturity. This study aimed at assessing the influence of glycemic control quality on the results of fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes or mild hyperglycemia.

Methods. This cross-sectional study included 187 pregnant women and their babies. The women were submitted to routine amniocentesis for the assessment of fetal lung maturity up to 72 hours before delivery. Exclusion criteria were: amniotic fluid contaminated with blood and/or meconium; multiple gestation; prenatal corticosteroid therapy within seven days before delivery; severe malformations or chromosomopathies, and gestational age under 34 weeks. Fetal lung maturity thresholds were; Clements-positive at a dilution of 0.7; OD_{650nm} ≥0.15; and LBC ≥32000/μl. The relationship of test results with adequate (≤ 120mg/dl) or poor (> 120 mg/dl) glycemic mean (GM) at term and at pre-term was evaluated.

Results. Of the 187 women, 72(38.5%) had clinical diabetes, 90(48.1%) had gestational diabetes, and 25(13.4%) had mild hyperglycemia. Glycemic control was adequate in 146 (78.1%) women. Two cases (1.07%) of RDS were observed. Maturity percentage had no effect on glycemic control. Clements maturity rates were higher at term (91.9%) than at pre-term (64.7%) when GM ≤ 120mg/dl (p<0.001), but not when control was inadequate. LBC median was higher at term (99.0; 62.0-154.0) than at pre-term (66.5; 40.5-108.25) (p = 0.009) when GM ≤ 120mg/dl, while GM > 120 mg/dl did not lead to any difference between these rates at term or pre-term. When glycemic control was adequate, OD_{650nm} medians at term and at pre-term were similar. However, when GM > 120 mg/dl, OD_{650nm} median at term (0.29; 0.22-0.40) was superior to that observed at pre-term (0.15; 0.12-0.18) (p<0.001).

Conclusions. The influence of maternal glycemic control on test results was demonstrated. At pregnancy term, lung maturity assessment is not necessary. However, in pre-term pregnancies, or when glycemic control is inadequate, this kind of assessment is still indicated

Key words: fetal lung maturity; diabetes in pregnancy; amniocentesis

Influência do controle glicêmico na maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve

Ana Karina C. De Luca¹, Cristiane Y. Nakazawa², Beatriz C. Azevedo², Marilza V. C. Rudge², Roberto A. A. Costa² e Iracema M. P. Calderon²

¹Departamento de Pediatria e ²Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu-UNESP, Botucatu, São Paulo, Brasil

Introdução. A hiperglicemia materna favorece atraso na maturidade pulmonar fetal. Esse estudo avaliou a influência da qualidade do controle glicêmico nos resultados dos testes de maturidade pulmonar, em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve.

Métodos. Estudo de corte transversal, incluindo 187 gestantes, e respectivos recém-nascidos, submetidas à amniocentese, de rotina, para avaliação da maturidade pulmonar fetal, até 72 horas antes do parto. Foram excluídos líquido amniótico contaminado por sangue e/ou mecônio; gestação múltipla; terapia corticosteroíde antenatal até sete dias antes do parto; malformações graves ou cromossomopatias e idade gestacional inferior a 34 semanas. Considerou-se como limite de maturidade pulmonar fetal, Clements positivo a partir da diluição 0,7ml; $DO_{650nm} \geq 0,15$ e $CCL \geq 32000/\mu l$. Estudou-se a interação da média glicêmica (MG), adequada ($MG \leq 120mg/dl$) e inadequada ($MG > 120mg/dl$), diferenciada no termo e no pré-termo, com os resultados dos testes. *Resultados.* Das 187 gestantes, 72 (38,5%) eram diabéticas clínicas, 90 (48,1%) gestacionais e 25 (13,4%) tinham hiperglicemia leve. O controle glicêmico foi adequado em 146(78,1%). Houve dois casos de SDR (1,07%). O percentual de maturidade dos testes não mostrou influência do controle glicêmico. Na $MG \leq 120mg/dl$, os percentuais de maturidade do Clements foram maiores no termo (91,9%) que no pré-termo (64,7%) ($p < 0,001$), o que não ocorreu no controle inadequado. Na $MG \leq 120mg/dl$, o valor da mediana da CCL foi mais elevado no termo (99,0; 62,0–154,0) que no pré-termo (66,5; 40,5–108,25) ($p = 0,009$). A $MG > 120mg/dl$ não diferenciou esses índices no termo ou pré-termo. No controle glicêmico adequado, os valores da mediana de DO_{650nm} foram semelhantes no termo e no pré-termo. Na $MG > 120mg/dl$, a mediana de DO_{650nm} no termo (0,29; 0,22–0,40) foi superior à observada no pré-termo (0,15; 0,12–0,18) ($p < 0,001$).

Conclusões. As provas avaliadas mostraram influência do controle glicêmico materno nos resultados dos testes. No termo da gestação, a avaliação da maturidade pulmonar não é necessária. No pré-termo e no controle glicêmico inadequado, esta avaliação ainda tem indicação.

Palavras-chave: maturidade pulmonar fetal; diabetes na gravidez; amniocentese.

1. Introdução

O risco de atraso na maturidade pulmonar fetal e de síndrome de desconforto respiratório do recém-nascido (SDR) no filho de mãe diabética é conhecido há tempos (1,2). Apesar disso, os mecanismos implicados na sua fisiopatologia não estão completamente esclarecidos e vários investigadores sugerem que a hiperglicemia e o hiperinsulinismo fetal seriam os responsáveis por essa alteração. O hiperinsulinismo fetal inibe o desenvolvimento de enzimas necessárias para a síntese dos fosfolípidios; antagoniza a ação do cortisol na síntese do surfactante pulmonar, com diminuição do número de receptores pulmonares de glicocorticóides; diminui a incorporação de colina na lecitina e da glicose e ácidos graxos na fosfatidilcolina saturada, retardando a maturação do sistema surfactante (1,3-5). Apesar da SDR ser complicação rara em recém-nascidos de termo, filhos de mães diabéticas (6,7), as opiniões sobre essas possíveis relações são controversas. Alguns pesquisadores não conseguiram comprová-las (8), enquanto outros destacam a importância da qualidade do controle glicêmico na garantia da maturidade pulmonar fetal e prevenção da SDR (9-14).

No controle metabólico adequado não há atraso na produção e na qualidade do surfactante pulmonar (9-14) e a amniocentese para avaliar a maturidade pulmonar fetal é prática a ser abandonada (13,14). Entretanto, a maturidade pulmonar fetal deve ser confirmada nos casos de controle metabólico inadequado e idade gestacional não-confirmada (13).

Os testes considerados padrão-ouro para avaliação da maturidade pulmonar fetal são a relação lecitina/esfingomiéline (L/E) e a dosagem de fosfatidilglicerol. No entanto, esses exames demandam tempo, técnica e aparelho especializados, o que eleva o custo e dificulta sua aplicação na prática clínica. O teste de Clements continua sendo opção rápida, de fácil realização e baixo custo. (14) A densidade óptica a 650nm (DO_{650nm}), apesar de pouco utilizada atualmente, é descrita como exame de boa sensibilidade e especificidade e, também, de menor custo (6,15). Mais recentemente, a contagem de corpúsculos lamelares (CCL) vem sendo divulgada, pela facilidade técnica e baixo custo. Os pneumócitos tipo II sintetizam os fosfolípidios constituintes do surfactante pulmonar, que são armazenados na forma de estruturas denominadas corpúsculos lamelares. Esses corpúsculos são secretados constantemente para a luz alveolar e daí entram em contato com o líquido. Têm tamanho semelhante ao das plaquetas e, por isso, podem ser quantificados em aparelhos de automação para contagem de células sanguíneas (14).

Na avaliação da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por hiperglicemia materna, muitos pontos obscuros devem ser esclarecidos. O limite do controle glicêmico, ideal para garantir maturidade pulmonar fetal, além de diferenciado entre os autores, na prática clínica é difícil de ser alcançado e mantido. Os protocolos de serviços especializados ainda incluem a amniocentese para avaliação da maturidade pulmonar fetal, auxiliando na decisão do momento do parto, mesmo no diabetes bem

controlado. Assim, a avaliação crítica de protocolos específicos é sempre interessante e resulta em benefícios para o prognóstico materno-fetal.

O objetivo desse estudo foi avaliar a influência da qualidade do controle glicêmico materno nos resultados dos testes de maturidade pulmonar fetal – Clements, DO_{650nm} e CCL em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve (16,17), diferenciadas na idade gestacional de termo e pré-termo.

2. Materiais e Métodos

O estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu–Unesp.

Pacientes

Foram incluídos 187 pares de mães e recém-nascidos, atendidos no Serviço de Diabete e Gravidez da Faculdade de Medicina de Botucatu–UNESP, de fevereiro de 2000 a dezembro de 2005. Foi delineado um estudo de corte transversal, para avaliar a influência do controle glicêmico materno nos resultados dos testes de maturidade pulmonar fetal, em gestações complicadas por diabete ou hiperglicemia leve.

Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídas gestantes portadoras de hiperglicemia leve ou diabete, pré-gestacional (tipo 1 ou 2) ou gestacional, submetidas à amniocentese, com intervalo máximo de 72 horas do parto, e recém-nascidos vivos, com idade gestacional (IG) mínima de 34semanas ($IG \geq 34$ semanas). A hiperglicemia leve foi caracterizada por resposta normal ao teste oral de tolerância à glicose (TTG_{100g}) e alterada no perfil glicêmico (PG) (16,17). O diagnóstico e a classificação do diabete na gestação seguiram os critérios da *American Diabetes Association* (18,19). Foram critérios de exclusão, presença de contaminantes no líquido amniótico, sangue e/ou mecônio; gestação múltipla; corticosteróide antenatal até sete dias antes do parto e malformações graves ou cromossomopatias no recém-nascido.

O teste de Clements foi realizado de acordo com técnica modificada padronizada no Serviço. Inclui diluição dos volumes diferenciados (1,0; 0,9; 0,8; 0,7; 0,6 e 0,5ml) de LA, distribuídos em seis tubos de 14x100mm, com soro fisiológico em volumes suficientes para completar 1ml, adição de 1 ml de álcool a 95° a cada tubo, fechados com tampas de borracha, e agitação vigorosa dos tubos por 15 segundos, deixando-os em repouso por 15min. Após este tempo, a persistência de um anel contínuo e completo de bolhas na interface líquido/ar, a partir do tubo 4, ou seja, nas diluições 0,7; 0,6 e 0,5, foi considerado resultado positivo, indicativo de maturidade pulmonar (22). A CCL foi realizada com 0,3ml de LA, em aparelho de automação para contagem de células sanguíneas (KX-21N[®], incluindo o *kit* de leitura da Roche[®]). Considerou-se maturidade pulmonar fetal quando a CCL foi igual ou maior que 32000/ μ l (23). A DO_{650nm} foi realizada com o restante do LA, cerca de 7ml, após centrifugação a 2.500rpm, por 10 minutos. O sobrenadante foi colocado em tubo específico de leitura óptica em aparelho de espectrofotometria (Spectronic 88 - Bausch & Lomb[®]), no comprimento de onda de 650nm. Considerou-se resultado positivo a diferença de densidade óptica igual ou maior que 0,15nm [DO_{650nm} \geq 0,15] (6).

Análise dos dados

Os dados foram coletados em protocolo pré-definido, contendo informações das gestantes e dos recém-nascidos e armazenados em banco de dados específico no *software* Microsoft Office Excel (2003). Para análise estatística, foram transportados para o programa SPSS, Chicago IL, USA, versão 10.0.5.

Foram avaliados o percentual de maturidade e as medianas dos testes de maturidade pulmonar, relacionados à MG do terceiro trimestre, categorizada em adequada (≤ 120 mg/dl) e inadequada (> 120 mg/dl), e discriminados na IG de termo (≥ 37 semanas) e pré-termo (≥ 34 e < 37 semanas). As proporções foram comparadas pelos testes do Qui-quadrado (χ^2) e exato de Fisher; as medianas, pelo teste de Mann-Whitney, considerando o limite de significância estatística de 95% (α ou $p < 0,05$).

3. Resultados

Na população avaliada (187 pares de mães e recém-nascidos), 162 (86,6%) gestações eram diabéticas, distribuídas em 72 diabéticas clínicas (38,5%) e 90 diabéticas gestacionais (48,1%), e 25 (13,4%) apresentavam hiperglicemia leve. Entre as 162 diabéticas, 13,6% tinham vasculopatia associada (classes D a FR de Priscila White). Entre os recém-nascidos, a IG foi maior que 37 semanas em 73,8% dos casos, com 26,2% de pré-termo tardio (IG ≥ 34 e < 37 semanas). O controle glicêmico foi adequado em 78,1% das gestantes e a associação com doença hipertensiva foi de 33,7% (Tabela 1). Ocorreram dois casos de SDR (2/187), ambos previstos pelos resultados negativos nos três testes de maturidade pulmonar fetal. Isto correspondeu à incidência de 1,07%.

Utilizando os *cut-offs* pré-estabelecidos, o percentual dos resultados (positivo ou negativo) dos testes – Clements, DO_{650nm} e CCL, não mostrou influência do controle glicêmico materno, tanto nas gestações de termo (Tabela 2) como nas de pré-termo tardio (Tabela 3).

Na faixa de MG ≤ 120 mg/dl, os percentuais de maturidade do Clements foram maiores no termo (91,9%) e menores no pré-termo tardio (64,7%) ($p < 0,001$). Isto não ocorreu no controle glicêmico inadequado, com MG > 120 mg/dl, onde os valores no termo (88,0%) foram estatisticamente semelhantes aos do pré-termo tardio (69,2%) ($p = 0,329$) (Figura 1A).

No controle glicêmico adequado ($MG \leq 120\text{mg/dl}$), os valores da mediana de $DO_{650\text{nm}}$ não se diferenciaram entre o termo (0,32; 0,22–0,48) e o pré-termo tardio (0,28; 0,19–0,45) ($p = 0,316$). No controle glicêmico inadequado, os valores no termo (0,29; 0,22–0,40) foram estatisticamente mais elevados que os calculados no pré-termo tardio (0,15; 0,12–0,18) ($p < 0,001$). No pré-termo tardio ($IG \geq 34$ e < 37 semanas), o valor da mediana de $DO_{650\text{nm}}$ foi de 0,28 na $MG \leq 120\text{mg/dl}$, estatisticamente superior ao valor de 0,15 para a faixa de $MG > 120\text{mg/dl}$ ($p = 0,036$) (Figura 1B).

O valor da mediana dos corpúsculos lamelares ($\times 1000/\mu\text{l}$) no termo, com $MG \leq 120\text{mg/dl}$, foi estatisticamente maior (99,0; 62,0–154,0) que o avaliado no pré-termo tardio (66,5; 40,5–108,25) ($p = 0,009$). À semelhança do teste de Clements, o controle glicêmico inadequado não diferenciou os valores medianos de CCL, no termo (98,0; 71,0–122,0) e no pré-termo tardio (65,0; 38,0–91,0) ($p = 0,093$) (Figura 1C).

Tabela 1. Características da população

Características	Freqüência	%
Tipo de Diabetes		
Tipo 1	35	21,6
Tipo 2	37	22,8
Gestacional	90	55,6
Total	162	100,0
Classes de P. White		
A e A/B	90	55,5
B e C	50	30,9
D a FR	22	13,6
Total	162	100,0
Hiperglicemia leve	25	13,4
Controle Glicêmico		
Adequado (≤ 120 mg/dl)	146	78,1
Inadequado (> 120 mg/dl)	41	21,9
Total	187	100,0
Hipertensão Arterial		
HAC	33	17,6
HG	16	8,6
PE	09	4,8
HAC + PE	05	2,7
Total	63	33,7
Idade Gestacional		
34–37sem	49	26,2
≥ 37 sem	138	73,8
Total	187	100

Tabela 2. Percentuais de maturidade dos testes – Clements, DO₆₅₀ e CCL, no controle metabólico adequado (MG ≤120mg/dl) e inadequado (MG >120mg/dl) em gestações de termo (IG ≥37semanas)

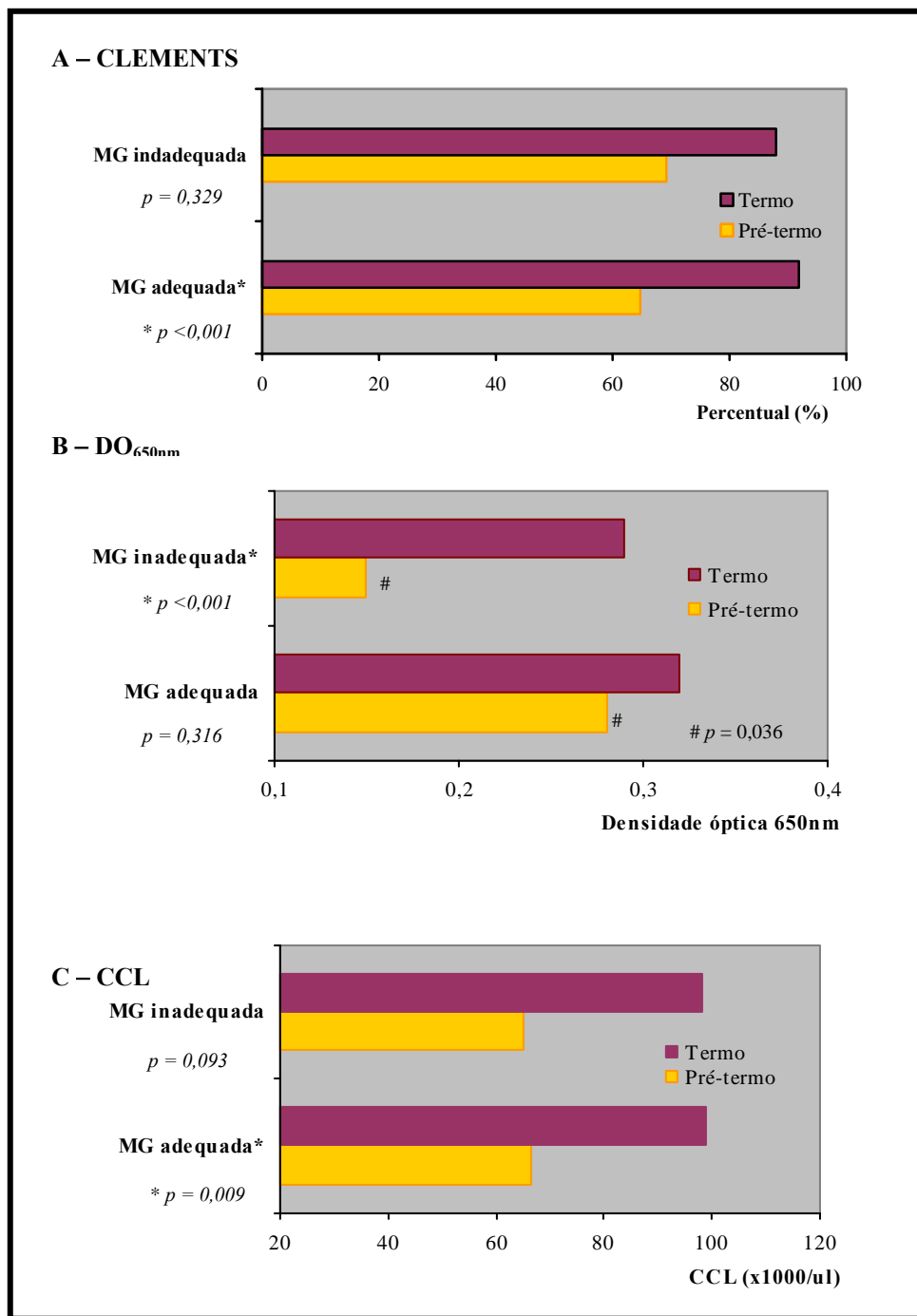
Teste	MG ≤120mg/dl		MG >120mg/dl		p*
	n	%	n	%	
Clements‡					
Negativo (>0,7)	09	8,1	03	12,0	0,461
Positivo (≤0,7)	102	91,9	22	88,0	
Total	111	100,0	25	100,0	
DO₆₅₀‡					
Negativo (<0,15)	07	6,3	00	0,0	0,352
Positivo (≥0,15)	105	93,7	24	100,0	
Total	112	100,0	24	100,0	
CCL					
Negativo (<32000)	04	3,5	00	0,0	1,000
Positivo (≥32000)	109	96,5	25	100,0	
Total	113	100,0	25	100,0	

‡ provas não realizadas – Clements = 2 casos; DO₆₅₀ = 2 casos

* teste exato de Fisher ao nível de significância $\alpha = 0,05$

Tabela 3. Percentuais de maturidade dos testes – Clements, DO₆₅₀ e CCL, no controle metabólico adequado (MG ≤120mg/dl) e inadequado (MG >120mg/dl) em gestações de pré-termo tardio (IG ≥34 e <37semanas)

Teste	MG ≤120mg/dl		MG >120mg/dl		p*
	n	%	n	%	
Clements‡					
Negativo (>0,7)	12	35,3	04	30,8	1,000*
Positivo (7,012 ou346s8 638.06 6146253O2>				



A = Clements (percentual; %); B = DO₆₅₀ (mediana); C = CCL (mediana; n x1000/μl)

Figura 1. Percentuais de maturidade de Clements (A) e valores medianos de DO₆₅₀ (B) e CCL (C), no controle metabólico adequado (MG ≤120mg/dl) e inadequado (MG >120mg/dl), no pré-termo tardio (IG ≥34 e <37semanas) e no termo (IG ≥37semanas)

4. Discussão

Neste estudo, o percentual de resultados positivos ou negativos dos testes – Clements, DO_{650nm} e CCL, não mostrou influência da média glicêmica materna. Independentemente da idade gestacional, a proporção destes resultados foi estatisticamente semelhante, tanto no controle glicêmico adequado, como no inadequado. Tais achados são concordantes com os de Berkowitz et al. (8), que não encontraram alterações significativas nos resultados da relação L/E e das dosagens de fosfatidilglicerol, comparando gestações diabéticas e não-diabéticas. Entretanto, contradizem nossos estudos anteriores, nos quais o controle metabólico materno mais rigoroso contribuiu para a queda na ocorrência de SDR no Serviço nos últimos anos (16,22,24).

Desde que Gluck e Kulovich (1,2) levantaram o problema do atraso da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes, a literatura vem discutindo a necessidade da amniocentese como rotina nessas gestações. Nem todos os trabalhos são concordantes, mas muitos autores defendem que o bom controle metabólico materno é fator determinante para o desenvolvimento pulmonar fetal, comparável ao de gestações normais (5,8-13). Ou seja, na hiperglicemia materna controlada, os marcadores da maturidade pulmonar fetal deverão diferenciar o risco de SDR no termo e no pré-termo.

O resultado negativo nos testes de avaliação indica risco para desenvolver SDR, com sensibilidade e VPN de 100,0 % e índices menores de especificidade e VPP (6,24), independentemente da manifestação da doença. Isto aconteceu no presente estudo, pois os resultados negativos dos três testes identificaram o risco de SDR, mas a doença só foi confirmada em dois dos 187 casos (1,07%). Outros fatores devem ter favorecido o desfecho perinatal, comparável ao referido nos países desenvolvidos (7,11,13,25). Entre eles, a grande proporção de recém-nascidos de termo, a não-inclusão dos recém-nascidos com IG <34semanas, a associação de hipertensão arterial e vasculopatia diabética, que aceleram a maturidade pulmonar fetal (4,13) e a maior proporção de gestantes com MG \leq 120mg/dl.

A qualidade do controle glicêmico materno, ideal para garantir a produção dos fosfolipídios pulmonares é controversa e alguns pesquisadores não a consideraram em seus resultados (12,25,26). Apesar disso, os valores máximos de 120mg/dl nas médias dos perfis glicêmicos de terceiro trimestre foram adequados para prevenir a morbidade perinatal, decorrente da imaturidade pulmonar (16).

A análise dos valores absolutos, independente dos *cut-offs* pré-estabelecidos, mostrou comportamento diferenciado entre os testes, relacionado à qualidade do controle glicêmico materno. Na MG adequada (\leq 120mg/dl), os maiores índices de Clements (%) e CCL (mediana), observados na IG \geq 37semanas, reproduziram a fisiologia da gestação normal. Em outras palavras, confirmaram maior produção de fosfolipídios pulmonares no termo (IG \geq 37semanas) e menor no pré-termo (IG <37semanas). Ainda, no

controle glicêmico inadequado (MG ≥ 120 mg/dl), a impossibilidade de diferenciar os resultados de Clements e CCL, nas gestações de termo e pré-termo, indicaram efeito adverso da hiperglicemia materna no amadurecimento e desenvolvimento pulmonar fetal. Estas observações ratificam a opinião de outros pesquisadores (5,6,8-13) e justificam a necessidade de revisão dos protocolos de conduta. Por estes testes, a amniocentese de rotina, na 37^a semana de gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve, seria dispensável, ficando sua indicação reservada para o pré-termo e para a hiperglicemia materna não-controlada (MG < 120 mg/dl).

O controle glicêmico adequado (MG ≤ 120 mg/dl) não diferenciou os valores medianos de DO_{650nm} , e seus respectivos quartis, entre o termo e o pré-termo. Ao contrário do observado na MG adequada e nos outros exames (Clements e CCL), a MG ≥ 120 mg/dl apresentou maiores índices de DO_{650nm} no termo e menores no pré-termo tardio. Ou seja, por este resultado, o controle da glicemia materna não seria fator determinante na maturidade pulmonar fetal. Entretanto, no pré-termo tardio (IG ≥ 34 e < 37 semanas), o controle glicêmico adequado (MG ≤ 120 mg/dl) demonstrou valores de DO_{650nm} maiores que os avaliados no controle inadequado (MG > 120 mg/dl), respectivamente, 0,28 e 0,15 ($p = 0,036$). Isto indica atraso na síntese e liberação do surfactante pulmonar no pré-termo, decorrente da hiperglicemia materna não-controlada, e ratifica a importância do controle glicêmico materno nestas gestações. Por esse teste, a amniocentese deveria ser rotina na hiperglicemia materna não-controlada e no pré-termo, à semelhança das indicações do Clements e da CCL e dos resultados da literatura (9-11,13).

Na verdade, Clements, DO_{650nm} e CCL não são as melhores provas para identificar a presença de fosfolipídios no surfactante pulmonar fetal. Os marcadores padrão-ouro para este fim são a relação L/E, com quantificação de fosfolipídios específicos (lecitina e esfingomielina), e a dosagem do fosfatidilglicerol, com incremento da síntese estabelecido a partir da 36ª semana (14). Ainda que não consagrados como marcadores dos fosfolipídios no líquido amniótico, Clements, DO_{650nm} e CCL foram suficientes para mostrar a relação direta (Clements e CCL) ou indireta (DO_{650nm}) entre controle glicêmico materno, adequado e inadequado, e resultados dos testes, no termo e pré-termo tardio. Algumas diferenças nos comportamentos poderiam ser explicadas por características inerentes aos próprios testes. A técnica do Clements é dependente do desempenho humano (14); DO_{650nm} avalia o total de fosfolipídios produzidos, armazenados em organelas e liberados no líquido amniótico (14,27,28); CCL quantifica apenas os armazenados na forma de corpúsculos lamelares (14). Estes fatores, associados à menor proporção de prematuros (26,2%) e de controle glicêmico materno inadequado (21,9%) podem ter limitado a interpretação dos nossos resultados.

Finalmente, a avaliação crítica desses resultados definiu orientações na prática clínica. Nas gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve, a amniocentese de rotina para avaliação de maturidade pulmonar fetal deve ser abandonada no termo (IG \geq 37semanas). No pré-termo (IG <37semanas) e na hiperglicemia materna não-controlada (MG >120mg/dl), independente da idade gestacional, esta avaliação ainda é necessária e deve ser mantida.

5. Referências

1. Gluck L, Kulovich MV. Lecithin-sphingomyelin ratios in amniotic fluid in normal and abnormal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1973 Feb 15;115(4):539-46.
 2. Kulovich MV, Gluck L. The lung profile. II. Complicated pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1979 Sep 1;135(1):64-70.
 3. Amon E, Lipshitz J, Sibai BM, Abdella TN, Whybrew MS, El-Nazer A. Quantitative analysis of amniotic fluid phospholipids in diabetic pregnant women. *Obstet Gynecol* 1986;68:373-8.
 4. Tyrala EE. The infant of the diabetic mother. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 1996 Mar;23(1):221-41.
 5. Delgado JC, Greene MF, Winkelman JW, Tanasijevic MJ. Comparison of disaturated phosphatidylcholine and fetal lung maturity surfactant/albumin ratio in diabetic and nondiabetic pregnancies. *Am J Clin Pathol.* 2000 Feb;113(2):233-9.
 6. Kjos SL, Walther FJ, Montoro M, Paul RH, Diaz F, Stabler M. Prevalence and etiology of respiratory distress in infants of diabetic mothers: predictive value of fetal lung maturation tests. *Am J Obstet Gynecol.* 1990 Sep;163(3):898-903.
-

7. Kjos SL, Berkowitz KM, Kung B. Prospective delivery of reliably dated term infants of diabetic mothers without determination of fetal lung maturity: comparison to historical control. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2002 Dec;12(6):433-7.
 8. Berkowitz K, Reyes C, Saadat P, Kjos SL. Fetal lung maturation. Comparison of biochemical indices in gestational diabetic and nondiabetic pregnancies. *J Reprod Med.* 1997 Dec;42(12):793-800.
 9. Piper JM, Langer O. Does maternal diabetes delay fetal pulmonary maturity? *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Mar;168(3 Pt 1):783-6.
 10. Piper JM, Samueloff A, Langer O. Outcome of amniotic fluid analysis and neonatal respiratory status in diabetic and nondiabetic pregnancies. *J Reprod Med.* 1995 Nov;40(11):780-4.
 11. Piper JM, Xenakis EM, Langer O. Delayed appearance of pulmonary maturation markers is associated with poor glucose control in diabetic pregnancies. *J Matern Fetal Med.* 1998 May-Jun;7(3):148-53.
 12. Piazzze JJ, Anceschi MM, Maranghi L, Brancato V, Marchiani E, Cosmi EV. Fetal lung maturity in pregnancies complicated by insulin-dependent and gestational diabetes: a matched cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999 Apr;83(2):145-50.
-

13. Piper JM. Lung maturation in diabetes in pregnancy: if and when to test. *Semin Perinatol.* 2002 Jun;26(3):206-9.
 14. Grenache DG, Gronowski AM. Fetal lung maturity. *Clin Biochem.* 2006 Jan;39(1):1-10.
 15. Rohlfes EM, Chaing SH, Chapman JF. Analytical and clinical evaluation of refractive index-matched anomalous diffraction (RIMAD) for assessment of fetal lung maturation. *Clin Chem.* 1996 Nov;42(11):1861-8.
 16. Rudge MV, Calderon IM, Ramos MD, Abbade JF, Rugolo LM. Perinatal outcome of pregnancies complicated by diabetes and by maternal daily hyperglycemia not related to diabetes. A retrospective 10-year analysis. *Gynecol Obstet Invest.* 2000;50(2):108-12.
 17. Calderon IM, Damasceno DC, Amorin RL, Costa RA, Brasil MA, Rudge MV. Morphometric study of placental villi and vessels in women with mild hyperglycemia or gestational or overt diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007 Mar 12.
 18. American Diabetes Association. Gestational Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2004;27(Suppl1):S88-90.
 19. American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care.* 2007;30(S1):42-7.
-

20. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard Score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr.* 1991 Sep;119(3):417-23.
 21. Raju TN, Higgins RD, Stark AR, Leveno KJ. Optimizing care and outcome for late-preterm (near-term) infants: a summary of the workshop sponsored by the National Institute of Child Health and Human Development. *Pediatrics.* 2006 Sep;118(3):1207-14.
 22. Rudge MVC, Calderon IMP, Ramos MD, Peraçoli JC, Souza LMS, Bossolan G. Perfil fosfolipídico do líquido amniótico de gestantes diabéticas. *Rev Bras Ginec Obstet.* 1996;18:785-98.
 23. 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):387-91.
 24. De Luca AKC, Oliveira EA, Rugolo LMSS, Costa RAA, Calderon IMP. Teste de Clements, densidade óptica a 650nm e contagem de corpúsculos lamelares na predição da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. Departamento de Ginecologia e Obstetrícia-Faculdade de Medicina de Botucatu-Unesp 2007 (artigo em processo de publicação).
 25. DeRoche ME, Ingardia CJ, Guerette PJ, Wu AH, LaSala CA, Mandavilli SR. The use of lamellar body counts to predict fetal lung maturity in pregnancies complicated by diabetes mellitus. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Oct;187(4):908-12.
-

26. Moore TR. A comparison of amniotic fluid fetal pulmonary phospholipids in normal and diabetic pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Apr;186(4):641-50.
 27. Gebhardt DOE, Egberts J. An explanation for the correlation between amniotic fluid optical density and the lecithin/sphingomyelin ratio. *Am J Obstet Gynecol.* 1981;140(4):481-2.
 28. Sbarra AJ, Cetrulo CL, Selvaraj RJ, Herschel MJ, Mitchell GW, Jr. Measurements of amniotic fluid optical density. *Am J Obstet Gynecol.* 1981 Mar 1;139(5):610.
-

Considerações Finais

O atraso na maturidade bioquímica pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes é descrito na literatura, por mecanismos ainda não esclarecidos. Alguns investigadores sugerem que a hiperglicemia e o hiperinsulinismo fetal seriam os responsáveis por essa complicação, pois a quantidade e qualidade do surfactante pulmonar não se alteram quando o controle glicêmico é adequado. Atualmente, a Síndrome do Desconforto Respiratório (SDR) é complicação rara em recém-nascidos de termo, filhos de mães diabéticas. Mas, ainda há dúvida sobre o comportamento do sistema surfactante nos recém-nascidos de pré-termo, especialmente, na presença de hiperglicemia não-controlada. Essas observações são também validadas nas gestantes portadoras de hiperglicemia leve, com risco de eventos perinatais adversos, comparável ao das gestantes diabéticas. As secreções do pulmão fetal contribuem na composição do líquido amniótico e a quantidade de surfactante pulmonar pode ser estimada pela medida do surfactante no líquido amniótico. A amniocentese para avaliação da maturidade pulmonar fetal tem sido indicada em gestações de risco, inclusive nas complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. Em nosso meio, os testes utilizados na avaliação da maturidade pulmonar fetal no líquido amniótico são o Clements, a densidade óptica a 650nm (DO_{650}) e a contagem de corpúsculos lamelares (CCL).

O objetivo deste projeto foi avaliar o desempenho de testes de maturidade pulmonar fetal – Clements, DO_{650} e CCL e determinar a influência da qualidade do controle glicêmico materno nos resultados destes testes, nas gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. Para isso, foram desenvolvidos dois estudos, um de validação dos testes de maturidade

pulmonar fetal, definindo como padrão-ouro a presença de SDR (artigo 1; objetivo 1), e outro de corte transversal, para avaliar a influência da hiperglicemia materna, com MG categorizada em adequada ($MG \leq 120\text{mg/dl}$) e inadequada ($MG \geq 120\text{mg/dl}$), nos resultados dos testes de maturidade pulmonar fetal, diferenciados no termo e no pré-termo da gestação (artigo 2; objetivo 2). Foram incluídos 192 pares de mães e recém-nascidos de gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve, submetidas à avaliação da maturidade pulmonar fetal, com intervalo máximo de 72 horas até o parto, e acompanhadas no Serviço de Diabetes e Gravidez da Faculdade Medicina de Botucatu/UNESP. Associados a esses objetivos, estava o interesse em avaliar o protocolo de conduta do Serviço, ou seja, rever a validade da indicação de amniocentese, até agora de rotina na idade gestacional de 37 semanas, e definir a necessidade do emprego da associação dos três testes de avaliação de maturidade pulmonar fetal – Clements, $DO_{650\text{nm}}$ e CCL. Os resultados demonstraram que os testes tiveram bom desempenho na predição da SDR. A $DO_{650\text{nm}}$ e a CCL foram comparáveis e melhores que o Clements, que não deve ser usado de forma isolada. O custo-benefício da CCL $\geq 32000/\mu\text{l}$ justifica seu emprego isolado como triador da maturidade pulmonar fetal em gestações complicadas por diabetes ou hiperglicemia leve. Esses testes também mostraram influência do controle glicêmico materno em seus resultados. No termo da gestação, a avaliação da maturidade pulmonar não é necessária. No pré-termo e no controle glicêmico inadequado, esta avaliação ainda tem indicação. Diante desses resultados, o protocolo atual do Serviço deverá ser modificado – (1) a amniocentese de rotina na 37ª semana de

gestação não é necessária, ficando sua indicação restrita aos casos de necessidade relativa de interrupção da gestação no pré-termo; (2) a avaliação de risco para desenvolver SDR e, portanto, da imaturidade pulmonar fetal, deverá ser rastreada pela CCL, com *cut-off* ≥ 32000 corpúsculos/ μl , ficando a associação, com Clements e $\text{DO}_{650\text{nm}}$, reservada para os casos em que a CCL apresentar resultado indeterminado (CCL ≥ 8000 e < 32000 corpúsculos/ μl).

AGRADECIMENTOS

Ao Grupo de Apoio à Pesquisa (GAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu/Unesp, pela assessoria técnico-científica, em especial a Profa. Titular Maria Aparecida Mourão Brasil, coordenadora geral; Dr. Adriano Dias, coordenador técnico; Hélio Rubens Carvalho Nunes, estatístico; Profa. Mariza Branco, tradutora de língua inglesa.

Às agências de fomento, CNPq e FAPESP, pela concessão das bolsas de Iniciação Científica.

Anexo

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa.

