

Lamellar Body Cell Counting in Gastric Aspiration in Neonatal Respiratory Distress Syndrome

Sahar Badie^{1*}, Mohammad Heydarzade², Abdollah Janatdoost², Farzad Ilkhchoyi¹

¹Children Hospital Research Center, Department of Pediatrics, Tabriz Children Hospital, Tabriz, Iran

²Department of Pediatrics, Al-Zahra Hospital, Tabriz, Iran

Received: 29 Apr, 2013 Accepted: 6 Jul, 2013

Abstract

Background and Objectives: Respiratory Distress Syndrome (RDS) is an important cause of neonatal mortality and morbidity. Lamellar Bodies Cells (LBC) count has been introduced for RDS diagnosis. The aim of this study was to determine the validity of this method.

Materials and Methods: Eighty-two premature neonates entered to this crosssectional study, all their clinical and imaging information was obtained. Patients with distress syndrome criteria were marked. Gastric aspiration were performed and LBC were counted by sysmex, Xs 800 cell counter in all cases.

Results: The mean weigh of neonates was 1745 ± 515 grams. The frequents of patients with and without RDS criterias were 33(40/24%) and 82(59/75%), respectively. LBC count in RDS and non RDS group was not differed significantly. (160 ± 135 vs 151 ± 143 per microliter, $P= 0.9$). The sensitivity and specificity of LBC for RDS in cut off point of 80000 per microliter was 69% and 45%, respectively ($P> 0/05$).

Conclusion: Based on clinical and imaging diagnostic tests for RDS, the LBC counting cannot be a reliable test for RDS prediction.

Keywords: Respiratory Distress, Lamellar Body Cell, Neonate

*Corresponding author:

E-mail: saharbadie@yahoo.com

مقاله پژوهشی

تعیین تعداد اجسام تیغه ای موجود در ترشحات معده نوزادان مبتلا به سندرم زجر تنفسی

سحر بدیعی^{۱*}، محمد حیدرزاده^۲، عبدالله جنت دوست^۲، فرزاد ایلخچوی^۱

^۱مرکز تحقیقات بیمارستان کودکان، گروه کودکان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
^۲گروه کودکان، بیمارستان الزهراء تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۲/۲/۹ پذیرش: ۹۲/۴/۱۵

چکیده

زمینه و اهداف: سندرم زجر تنفسی نوزادان علل مهم مرگ و میر نوزادان نارس بشمار می رود. اخیرا روش اندازه گیری اجسام تیغه ای در این بیماران مطرح شده است. در این مقاله ارزش این روش را با استفاده از امکانات بومی خود ارزیابی می کنیم.

مواد و روش ها: تعداد ۸۲ نوزاد نارس در این مطالعه وارد شدند اطلاعات بالینی و تصویری مربوط به آنان ثبت گردید و بیماران دارای معیارهای بالینی سندرم زجر تنفسی مشخص شدند. محتویات معده تمام نوزادان از نظر اجسام تیغه ای با شمارش گر سلولی Xs 800, sysmex شمارش شد. روش آماری: برای مقایسه ارتباط وزن و تعداد اجسام تیغه ای از روش Correlation و میزان حساسیت و اختصاصی از روش ROC Curve استفاده شد. مقایسه میانگین ها از طریق Mann whitney U test در نرم افزار SPSS16 و مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ با ارزش فرض گردید.

یافته ها: وزن میانگین تولد نوزادان 515 ± 1745 گرم بود. ۳۳ نوزاد معیارهای سندرم زجر تنفسی را داشتند و ۴۹ نوزاد نداشتند. در بیماران با سندرم زجر تنفسی تعداد اجسام تیغه ای عبارت بود از 135 ± 160 هزار در میکرولیتر و در بیماران بدون سندرم دیسترس تنفسی 143 ± 151 بود که این تفاوت از نظر آماری قابل توجه نبود ($P=0/09$). حساسیت و اختصاصی بودن در سطح ۸۰۰۰۰ از جسم تیغه ای عبارت بود از ۶۹٪ و ۴۵٪ که بین دو گروه با و بدون سندرم زجر تنفسی تفاوت نداشت.

نتیجه گیری: با استناد به علائم بالینی و تصویربرداری و شرایط تکنیکی منطقه ما، روش فوق روش قابل استنادی برای پیش گویی سندرم زجر تنفسی نیست.

کلید واژه ها: جسم تیغه ای، سندرم زجر تنفسی، نوزادان

*ایمیل نویسنده رابط: saharbadie@yahoo.com

مقدمه

سندرم زجر تنفسی مهمترین عامل مرگ و میر در کشورهای پیشرفته محسوب می گردد (۱). علت این عارضه نقص در تولید سورفاکتانت در ریه نوزادان است که منجر به کلاپس ریه آنان در زمان کوتاهی بعد از تولد می گردد. شیوع این عارضه با افزایش سن حاملگی کاهش می یابد به طوری که در سن ۳۷ هفته به کمتر از ۵٪ می رسد (۲). یافتن روش سریعی جهت تشخیص این عارضه همیشه مورد توجه محققان بوده است که یکی از سریع ترین و قابل اعتماد ترین آنها روش اندازه گیری اجسام تیغه ای بوده است (۳) که مرکب از فسفولیپید هایی است که به شکل تیغه ای شکل یافته اند با قطر ۱ تا ۵ میکرومتر که مشابه اندازه پلاکت ها می باشد (۴ تا ۴ میکرومتر). در واقع این اجسام تیغه ای نمایانگر میزان سورفاکتانت ریوی می باشند و این شکل و اندازه فضایی آنان است که باعث می گردد تا متخصصان بتوانند تعداد آنها را با دستگاه های شمارش گر خونی محاسبه کنند (۴). در حال حاضر محاسبه نسبت فسفولیپیدها به آلبومین از شایعترین روش های اندازه گیری رسیده شدن ریه ها است که با دستگاه TDx-FLM II assay (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL) انجام می گردد (۵-۶). تکنیک هایی

که به روش اندازه گیری اجسام تیغه ای کمک می کند هر روز در حال پیشرفت می باشد و محققان به دنبال یافتن روش های ساده و مطمئن با حداکثر دقت و در عین حال به دنبال یافتن میزان حد نساب از جسم تیغه ای هستند که پیش گویی کننده رسیده شدن ریه ها باشد گرچه در مطالعات مختلف مقادیر بالای ۵۰۰۰۰ در میکرولیتر را به عنوان مطلوب و زیر ۱۵۰۰۰ را نامطلوب ذکر می کند (۷)، اما این مقادیر در نمونه های گرفته شده از معده نوزادان با توجه به مطالعات دیگر اندکی متفاوت است قسمتی از این اختلاف به دستگاه های شمارش گر و تکنیک هایی است که هر یک از این شمارش گر ها جهت شمارش این اجسام دارند (۸). در سال ۲۰۰۱ گروهی از محققان به طراحی یک پروتکل جهت بررسی این اجسام نمودند. در واقع علت تعداد مختلف این اجسام بود که از سال ۱۹۹۳ تا آن زمان با دستگاه های شمارش گر مختلف محاسبه و ارایه گردیده بود (۹).

در این مقاله ما بر آنیم تا مقادیر اجسام تیغه ای محاسبه در محتویات معده نوزادان تازه متولد شده را بعنوان یک روش پیش گویی کننده در رسیده شدن ریه این نوزادان که براساس علائم بالینی و رادیولوژیکی به عنوان

میان وزن تولد و میزان اجسام تیغه‌ای موجود در ترشحات معده این نوزادان نیز ارتباط مشخصی وجود نداشت ($P=0/4$ $R=0/008$). در بررسی های انجام شده بر اساس بروز علائم دیسترس تنفسی که دارای علائم بالینی نارسایی تنفسی شامل تاکی پنه، ناله، تورفتگی عضلات بین دنده ای و زیر دنده ای همراه با علائم رادیوگرافی سندرم دیسترس تنفسی که بیش از ۲۴ ساعت دوام داشته باشد ۳۳ نوزاد از ۸۲ نوزاد بود که میزان حساسیت و اختصاصی بودن اجسام تیغه‌ای در سه میزان ۹۰۰۰ و ۸۰۰۰ و ۱۸۰۰۰۰ در این گروه از نوزادان ثبت شد (جدول ۱) که در بیشترین سطح زیر منحنی ثبت شده یعنی در ۸۰۰۰۰ میزان حساسیت و اختصاصی بودن این مقدار از اجسام تیغه‌ای در نوزادان با سندرم دیسترس تنفسی ۴۵٪ و ۶۹٪ بود. در نوزادانی که معیارهای سندرم دیسترس تنفسی در آنان وجود نداشت این حساسیت و اختصاصی بودن تفاوت فاحشی با گروه دچار سندرم دیسترس تنفسی نداشت (حساسیت ۴۸٪ و اختصاصی ۶۷٪) بود. جدول ۱: نشان‌دهنده میزان حساسیت و اختصاصی بودن مقادیر مختلف اجسام تیغه‌ای در دو گروه می‌باشد.

جدول ۱: میزان حساسیت و اختصاصی بودن مقادیر مختلف اجسام تیغه ای در دو گروه

تعداد اجسام تیغه ای	اختصاصی	حساسیت	تعداد (نفر)	معیارهای مورد بررسی
۹۰۰۰	۴٪	۹۶٪	۴۹	عدم وجود معیارهای سندرم زجر تنفسی (کلینیکی و رادیوگرافی).
۸۰۰۰	۴۸٪	۶۷٪		
۱۷۷۰۰۰	۶۵٪	۴۰٪		
۹۰۰۰	۶٪	۱۰۰٪	۳۳	دیسترس تنفسی بیش از ۲۴ ساعت و علائم رادیوگرافی مثبت (معیارهای سندرم دیسترس تنفسی)
۸۰۰۰۰	۴۵٪	۶۹٪		
۱۸۰۰۰۰	۳۶٪	۳۶٪		

بحث

یافتن روش مطمئن و قابل دسترس جهت پیشگویی سندرم زجر تنفسی نوزادان به روش اندازه‌گیری اجسام تیغه ای از دهه ۹۰ شروع گردید. در واقع اجسام تیغه ای ذراتی عموماً به اندازه پلاکت هستند که محتوی سورفاکتانت هستند که در مایع آمنیون ترشح می‌گردد و میزان آن می‌تواند نشانگر رسیده شدن ریه های نوزادان باشد. ابتدا هدف به ارزش پیشگویی‌کننده این روش در مقایسه با روش های مطمئن و دشواری نظیر اندازه گیری سطح اسفنگومیلین و لستین بود که تقریباً همگی به این نتیجه رسیدند که این روش قابل مقایسه با یکدیگر است و در مرحله بعدی محققان بر آن شدند تا به یافتن روش ساده تری یعنی شمارش اجسام تیغه ای در محتویات معده نوزادان بپردازند (۱۵-۱۰). یک بررسی که حد نساب بررسی اجسام تیغه ای را بررسی کرد نشان داد حداقل میزان قابل قبول برای رسیده بودن ریه ها ۳۰۰۰۰ می‌باشد (۱۲ و ۱۶). این مقادیر در مطالعات مختلف متفاوت است بطوری که در مطالعه ای مقادیر کمتر از ۵۵۰۰۰ به عنوان حد نساب شناخته شده است (۱۰). در روش ما نیز که بر دوگروه با معیارهای سندرم زجر تنفسی و نوزادان بدون زجر تنفسی انجام گردید. در بیماران با سندرم دیسترس تنفسی میزان اجسام تیغه ای شمارش شده در واحد حجم عبارت بود از 135 ± 160 هزار در میکرولیتر و در بیماران بدون سندرم دیسترس تنفسی 143 ± 151 هزار در میکرولیتر بود که این تفاوت از نظر آماری قابل توجه نبود ($P=0/9$). میانگین وزن تولد در این نوزادان عبارت بود از 145 ± 515 گرم. از نظر ارتباط میان وزن تولد و میزان اجسام تیغه ای موجود در ترشحات معده این نوزادان نیز ارتباط مشخصی وجود نداشت ($P=0/4$ $R=0/008$). در سه سطح ۹۰۰۰ و ۸۰۰۰۰ و ۱۸۰۰۰۰ میزان حساسیت و اختصاصی بودن شمارش اجسام تیغه ای در بروز سندرم زجر تنفسی در بررسی ما مورد بررسی قرار گرفت در بهترین وضعیت

سندرم زجر تنفسی شناخته شده اند ارزیابی نماییم تا بتوانیم این روش تشخیصی را به شکل بومی و قابل دسترس در اختیار بیماران بگذاریم.

مواد و روش‌ها

تعداد ۸۲ نوزاد با سن حاملگی زیر ۳۴ هفته و بالای ۲۸ هفته در یک مطالعه مقطعی و بر اساس روش تصویربرداری و معاینات بالینی و شرح حال که همگی آنها معیارهای ورود به مطالعه را داشتند، انتخاب گردیدند و به روش غیرتصادفی وارد مطالعه شدند و در عرض یک ساعت اول پس از تولد اسپیراسیون محتویات معده این نوزادان انجام شد و ۳ میلی-لیتر از محتویات معده با ۳ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک مخلوط گردید و نمونه حاصل بدون انجام سانتریفوژ با حجم ۲۰ لاندبا به دستگاه شمارش سلولی از نوع Japan sysmex, xs800i ۲۰۰۹ تزریق گردید و تعداد پلاکت ها با حجم ۵ تا ۲ میکرومتر گزارش شده ثبت گردید که در پیش فرض همان اجسام تیغه ای هستند. نوزادان با اختلالات آناتومیک، عفونت‌های پری ناتال، موارد همراه با پارگی زودرس پرده آمنیون، وجود خون یا مکنونیوم در مایع آسپیره شده از مطالعه خارج گردیدند.

از نظر اخلاقی پس از تأیید بی ضرر بودن این روش از طرف گروه اخلاق مرکز درمانی مجری و اخذ رضایت نامه اخلاقی از والدین این نوزادان قبل از انجام این اقدام تشخیصی در جریان ارزش و اهمیت این بررسی و بی خطر بودن آن که هیچ عارضه جانی یا مالی برای آنان ندارد قرار گرفتند و پس از اخذ رضایت نامه این روش بر نوزادان آنان اجرا شد. سندرم دیسترس تنفسی براساس علائم بالینی که بیشتر از ۲۴ ساعت طول بکشد و وجود علائم رادیوگرافی به نفع سندرم زجر تنفسی و رد علل عفونی دیسترس تنفسی تأیید گردید و آزمایشات بیوشیمی از مایع آمنیون مادران جهت روش‌های بیوشیمیایی تأیید نارسایی تولید سورفاکتانت جهت این نوزادان انجام نگردید. وضعیت مراقبت در اطاق زایمان نیاز به فشار مثبت در زمان تولد نیاز به احیای دارویی و ماساژ قلبی و آپگارهای دقایق ۱ و ۵ و میزان مرگ این نوزادان ثبت گردید. مطالعه از نوع تحلیلی و مقطعی (cross sectional) می‌باشد و نمونه‌ها از طریق نمونه‌گیری غیرتصادفی و پس از اطمینان از شرایط ورود به مطالعه وارد این بررسی شدند. تمام یافته ها به شکل عدد و درصد بیان می‌گردد و مقایسه بین یافته های کمی از طریق Mann-Whitney U test و مقایسه بین یافته های کیفی از طریق Chi square بیان می‌گردد. جهت بررسی میزان حساسیت و اختصاصی بودن تست در Cut off های تعریف شده از روش ROC Curve استفاده خواهد شد.

یافته‌ها

تعداد ۸۲ نوزاد وارد این مطالعه شدند با وزن میانگین $\pm$ انحراف معیار 145 ± 515 گرم (حداقل: ۶۵۰ حداکثر: ۳۲۰۰ گرم) سن حاملگی این نوزادان بین ۲۸ تا ۳۴ هفته بود از میان این ۸۲ نوزاد در ۵۸ نوزاد دوره‌هایی از دیسترس تنفسی ثبت شد و در ۲۴ نوزاد هیچ سابقه‌ای از نارسایی تنفسی وجود نداشت. در ۳۳ نوزاد از ۸۲ نوزاد معیارهای بالینی علائم تنفسی و معیارهای رادیوگرافی به نفع سندرم دیسترس تنفسی بود و در ۴۹ نفر این معیارها شامل علائم بالینی و رادیولوژیکی با سندرم دیسترس تنفسی مطابقت نداشت. در بیماران با سندرم دیسترس تنفسی میزان اجسام تیغه ای شمارش شده در واحد حجم 135 ± 160 هزار در میکرولیتر ترشحات معده بود و در بیماران بدون سندرم دیسترس تنفسی این مقدار 143 ± 151 هزار در میکرولیتر ترشحات معده بود که این تفاوت در دو گروه از نظر آماری قابل توجه نبود ($P=0/9$) از نظر ارتباط

علت آن تداخل گلبول های سرخ با MCV پایین می باشد و محققان توصیه به محاسبه دستی در این موارد خاص نمودند (۱۷). گرچه در مواردی اینچنین بررسی خطاهای انسانی و دستگاه ممکن است هر دو دخیل باشد اما به کار بردن دو دستگاه شمارش گر با دو نوع مختلف و استناد به معیارهای حساس اما گران بیوشیمیایی مانند اندازه گیری اسفنگومیلین و لستین مایع آمنیون به جای علایم بالینی به تنهایی می تواند اعتبار نتایج را به میزان قابل توجه بالا ببرد که امیدواریم در تحقیقات بعدی این گونه باشد.

نتیجه گیری

در بررسی ما ارتباطی میان اجسام تیغه ای و وجود سندرم زجر تنفسی نوزادان وجود نداشت گرچه روش ما بر اساس تطابق بالینی این سندرم و یافته غیراختصاصی رادیوگرافی انجام شد و روش های استاندارد وجود این سندرم مانند بررسی مایع آمنیون از نظر اسفنگومیلین و لستین انجام نشد. همچنین یافته های غیرقابل استناد در این بررسی به میزان قابل توجه ممکن است مربوط به سیستم شمارشگر sysmex Xs باشد که بررسی جداگانه با دستگاه های شمارش گر دیگر به شکل مقایسه ای جهت تایید این ادعا توصیه می گردد. لذا بررسی ما ارتباط قابل توجهی را بین شمارش اجسام تیغه ای در محتویات معده نوزادان با بروز سندرم زجر تنفسی نشان نداد.

میزان حساسیت ۶۹٪ و میزان اختصاصی بودن ۴۵٪ بود که نسبت به مطالعات مشابه که ۷۵٪ حساسیت و ۷۲٪ اختصاصی بود پایین تر به نظر می رسد. گرچه روش های انجام شده و نمونه گیری های انجام شده به طریق محتویات معده عموماً بلافاصله بعد از تولد بوده و چندین دستگاه شمارش گر مورد ارزیابی قرار گرفتند (از جمله Sysmex XE-2100 و Coulter Counter LH755, counter Cell dyn) و در نهایت محققان به این نتیجه رسیدند که در روش شمارش به روش Cell dyn ارتباطی میان بروز سندرم زجر تنفسی و شمارش اجسام تیغه ای وجود ندارد (۸). لذا در حال حاضر مهمترین مسئله بررسی بهترین تکنیک و روش آزمایشگاهی جهت بالا بردن میزان حساسیت و اختصاصی بودن این روش در کلینیک و بر بالین بیماران و بر اساس شرایط بومی و آزمایشگاهی آن منطقه است. در بررسی ما نیز روش شمارش اجسام تیغه ای به روش ۲۰۰۹i Japansysmex, xs800i انجام گردید و اجسام تیغه ای که هم اندازه پلاکت ها هستند شمارش گردید و در نهایت مشخص شد که ارتباطی میان سندرم زجر تنفسی نوزادان و شمارش اجسام تیغه ای وجود ندارد. به نظر می رسد که روش استفاده از دستگاه sysmex Xs 800i, در شرایط بومی و آزمایشگاهی ما روش قابل اعتمادی برای ارزیابی شمارش اجسام تیغه ای به شمار نمی رود و قدرت پیش گویی بروز سندرم زجر تنفسی را نداشته باشد. در بررسی دیگری که در مورد عملکرد دستگاه sysmex Xs 800 در بیماران تالاسمی در سال ۲۰۰۹ انجام گردید محققان به این نتیجه رسیدند که در این بیماران با این دستگاه خاص تعداد پلاکت ها ممکن است بالاتر از مقدار واقعی گزارش شود و

References

- Kung HC, Hoyert DL, Xu J. Deaths: final data for 2005. *Natl Vital Stat Rep* 2008; **56**: 1-120.
- Luo G, Norwitz ER. Revisiting amniocentesis for fetal lung maturity after 36 weeks' gestation. *Rev Obstetric Gynecology* 2008; **1**: 61-68.
- Lu J, Gronowski AM, Eby C. Lamellar body counts performed on automated hematology analyzers to assess fetal lung maturity. *Lab Med* 2008; **39**: 419-423.
- Dubin SB. Characterization of amniotic fluid lamellar bodies by resistive-pulse counting: relationship to measures of fetallung maturity. *Clin Chem* 1989; **35**: 612-616.
- Torday JS, Rehan VK. Testing for fetal lung maturation: abiochemical "window" to the developing fetus. *Clin Lab Med* 2003; **23**: 361-383.
- Lockwood CM, Crompton JC, Riley JK, Landeros K, Dietzen DJ, Grenache DG, et.al. Validation of Lamellar Body Counts Using Three Hematology Analyzers. *American Journal of Clinical Pathology* 2010; **134**(3): 420-428.
- Neerhof MG, Dohnal JC, Ashwood ER, Lee IS, Anceschi MM. Lamellar body counts: a consensus on protocol. *Obstet Gynecol* 2001; **97**(2): 318-320.
- Verder H, Ebbesen F, Brandt J, Dahl M, Esberg G, Eschen C, et.al. Lamellar body counts on gastric as0 pirates for prediction of respiratory distress syndrome. *Acta Paediatr* 2011; **100**(2): 175-180. doi: 10.1111/j.1651-2227.2010.02010.x. Epub 2010 Oct 4.
- Ji Lu, Ann M, Gronowski A, Charles E. Lamellar Body Counts Performed on Automated Hematology Analyzers to Assess Fetal Lung Maturity. *Lab medicine Journal* 2008; **39**(7): 419-423.
- Ashwood ER, Palmer SE, Taylor JS. Lamellar body counts for rapid fetal lung maturity testing. *Obstetric Gynecol* 1993; **81**: 619-624.
- Green spoon 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; **40**: 260-266.
- Beinlich A, Fischass C, Kaufmann M. Lamellar body counts in amniotic fluid for prediction of fetal lung maturity. *Arch Gynecol Obstet* 1999; **262**: 173-180.
- Chapman JF, Ashwood ER, Feld R. Evaluation of two-dimensional cytometric lamellar body counts on the ADVIA 120 hematology system for estimation of fetal lung maturation. *Clin Chim Acta* 2004; **340**: 85-92.
- Ghidini A, Poggi SH, Spong CY, Goodwin KM, Vink J, Pezzullo JC. Role of lamellar body count for the prediction of neonatal respiratory distress syndrome in non-diabetic pregnant women. *Arch Gynecol Obstet* 2005; **271**(4): 325-328.
- Haymond S, Luzzi VI, Parvin CA. A direct comparison between lamellar body counts and fluorescent polarization methods for predicting respiratory distress syndrome. *Am J Clin Pathol* 2006; **126**: 894-899.
- Karcher R, Sykes E, Batton D, Uddin Z, Ross G, Hockman E, Shade GH, et.al. Gestational age-specific predicted risk of neonatal respiratory distress syndrome using lamellar body count and surfactant-to-albumin ratio in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 2005; **193**(5): 1680-1684.
- Han-Liang Zou, Ling-ling ZHU. The influence of XS-800i automated hematology analyzer on platelet parameters measurement in patients with thalassemia. *International Journal of Laboratory Medicine* 2009; **7**: 148-160.