Determinación de los Valores de Densidad Óptica a 650nm

EN EL LIQUIDO AMNIOTICO DEL EMBARAZO NORMAL ENTRE LAS SEMANAS 27 A 43 COMO INDICE DE MADUREZ PULMONAR FETAL

Juan Alvaro Salazar Galindo *
Alvaro Velasco Chiriboga **

Carlos Julio Pacheco Consuegra ***
Armando Guzmán Niño ****

La importancia de incorporar métodos de evaluación de la madurez pulmonar fetal en la práctica obstétrica, es cada día mayor. Ocupan puestos destacados los métodos encaminados a la determinación de fosfolípidos (cuantificación directa de la lecitina, su relación con la concentración de esfingomielina o la medida total de fosfolípidos); sin embargo, los requerimientos técnicos imposibilitan su realización en todos los casos que obliguen a establecer una medida de la madurez pulmonar fetal.

En 1971 Gluck⁵ reglamentó los criterios de medida del índice lecitina esfingomielina y desde entonces se ha intentado correlacionar este parámetro con pruebas más sencillas, rápidas y económicas. Está muy difundido en nuestro medio el "test de la espuma estable", basado en la capacidad del surfactante pulmonar para formar espuma en mezclas con etanol³, cuyos resultados en diferentes series muestran una correlación aceptable en la predicción de un índice L/E mayor de 2, ex-

cepto por un apreciable porcentaje de falsos negativos.

El análisis espectrofotométrico empleado tradicionalmente para medir la concentración de bilirrubinas en casos de isoimmunización⁷ se está incorporando de manera progresiva como base de varias pruebas predictivas de la madurez fetal. La curva determinada por la absorbancia a diferentes longitudes de onda muestra una disminución del pico que forma a los 450 nm (delta DO 450) a medida que el embarazo se acerca al término, observación empleada por Mandelbaum⁸, quien estableció asociación entre valores menores de 0,01 para Delta DO 450 nm y edades gestacionales mayores de 36 semanas.

Se intentó emplear la simple observación del líquido a la luz como método para la predicción del índice L/E con base en su grado de transparencia o contraste⁶, llegándose a obtener buenas aproximaciones. Esta experiencia la capitalizaron Sbarra y col.¹³, para buscar correspondencia entre las lecturas de densidad óptica y el índice L/E. Trabajando inicialmente con 400 nm se encontró que cuando las absorbancias superaban los 0,28 el índice L/E era por lo menos de 2. Sus hallazgos iniciales los comprobaron en series mayores¹⁴ e iniciaron lecturas a 650 nm con el ánimo de evitar la posible influencia que tuvieran los contaminantes del líquido. Fijando un valor crítico de absor-

* Residente II Ginecología y Obstetricia.

** Profesor asociado ginecología y obstetricia.

*** Residente II Ginecología y Obstetricia.

**** Jefe sección de química, laboratorio clínico H.S.J.D.

vancia a los 650 nm se consideraba maduro un líquido cuando sus lecturas superaban el nivel establecido, ya que correspondía a índices L/E mayores de 2. La buena asociación encontrada por este autor contrasta con las de otros investigadores quienes obtuvieron elevados porcentajes de falsos positivos y negativos (2,4); últimamente Spellacy y col.¹⁶ explicaron esta variabilidad por los efectos de la refrigeración al demostrar un descenso en las cifras de densidad óptica en forma proporcional al tiempo de refrigerado; igualmente recordaron cómo el tiempo y la velocidad de centrifugado influyen en los resultados. Evitando la refrigeración y utilizando 3.000 rpm, durante 10 minutos en la centrifugación, obtuvieron resultados aplicables a la práctica clínica como criterio selectivo en pacientes en quienes deban practicarse exámenes más complejos.

Este trabajo pretende: a) establecer una curva de valores de densidad óptica en embarazos normales de nuestro medio; b) establecer una correlación y deducir una fórmula para la curva de regresión con base en la cual podamos predecir una edad gestacional, conocida la densidad óptica del líquido amniótico.

Materiales y métodos

Durante un período de 4 meses se obtuvieron muestras de líquido amniótico en pacientes de la consulta prenatal y de las salas de trabajo del servicio obstétrico del Instituto Materno Infantil de Bogotá. Elegimos embarazadas con información confiable sobre la fecha de la última menstruación, ciclos regulares y sin antecedentes o evidencia de patología de su embarazo o sobreagregada. Mediante técnica de amniocentesis transabdominal suprapúbica o paramedian, en pacientes de la consulta prenatal, o amniocentesis vaginal en fase adelantada del trabajo de parto, obtuvimos 84 muestras de líquido procesables.

Ocho casos en que la muestra resultó contaminada parcialmente por sangre se comprobó un hematocrito menor de 3 para proceder a utilizarlas, recuperándolas por centrifugación inmediata a 500 g. En todos los casos, una vez obtenido el líquido se realizó la prueba de Clements destinando 2,75 cc a los 5 tubos en que se determina la estabilidad de la espuma y la cantidad restante fue sometida a centrifugación a 3.000 rpm por 10 minutos, sin refrigeración, para proceder a las lecturas colorimétricas a las longitudes de onda de 365, 450, 550 y 650 nm en un espectrofotómetro "Coleman", y su análisis bioquímico en un autoanalizador SMA para lecturas de proteínas totales, albúminas, calcio, fósforo inorgánico, nitrógeno ureico, glucosa, creatinina y fosfatasa alcalina total. Los datos obtenidos fueron graficados contra el tiempo de embarazo. Con las lecturas espectrofotométricas, además de buscar información sobre las variaciones de densidad óptica en el embarazo, se dedujo Delta DO 450 nm, según la fórmula siguiente¹⁰:

$$\text{Delta } 450 = \text{DO } 450 \text{ nm} - (\text{DO } 365 \text{ nm})^{0,54} (\text{DO } 550 \text{ nm})^{0,46}$$

Algunos de los datos fueron comprobados con la información del parto y las características de madurez del recién nacido, para comprobar indirectamente la veracidad de la edad gestacional calculada en el momento de la amniocentesis, procedimiento limitado por las condiciones de nuestra institución.

Los datos fueron finalmente procesados en el Centro de Cálculo de la Universidad Nacional con paquetes estadísticos S.A.S. y comprobados con S.P.S. en computador IBM, obteniendo los diferentes índices de correlación, "p" y error estándar que aparecen en las gráficas.

El trabajo fue procesado entregando al computador los datos investigados para cruzarlos con la edad gestacional

como variable independiente; se obtuvieron gráficas para los distintos parámetros utilizados y, finalmente, se buscaron las fórmulas que más se ajustaron al tipo de curva determinada por la nube de puntos mediante regresión "forward". En vista de la excelente correlación encontrada entre la edad gestacional y la densidad óptica a 650 nm, se invirtió el procedimiento dando los datos de densidad óptica como variable independiente y lograr obtener la fórmula para la curva de regresión, prediciendo la edad gestacional con base en los valores de densidad óptica.

Resultados

Se obtuvieron 84 muestras de igual número de pacientes cuyas edades oscilaron entre los 16 y 42 años, de las cuales 31 eran primigrávidas y 53 multiparas. Fueron confirmados los datos del parto y las características del recién nacido en 36 casos. El promedio de peso de los recién nacidos fue de 3.124 g en 33 productos y el promedio de duración gestacional de 284,3 día. El Apgar promedio fue de 9,8. El tipo de parto y sus complicaciones se presentan en la tabla N° 1.

TABLA N° 1

Características de los partos verificados

Partos revisados	36
Cesáreas	5
Situación transversa	2
Presentación de pelvis	1
RPM	5
Partos pretérmino	4
Partos gemelares	1
Inminencia de eclampsia	1

Los resultados de la lectura de densidad óptica a las distintas longitudes de onda y el valor de Delta 450 obtenido de ellas, fueron agrupados en la tabla N° 2 donde también se especifica el

promedio aritmético y la desviación estándar correspondiente para cada semana.

Los valores individuales de la densidad óptica a 650 nm se llevaron a la figura N° 1 donde trazamos la curva con los promedios en cada semana. Se puede observar que existe una tendencia neta a la brusca elevación de la densidad óptica a partir de la semana 37, más obvia en la semana 38 cuando es progresivo el aumento. A partir de este momento el 74,1% de las muestras poseen una absorbancia mayor de 0,10 y el 61,2% mayor de 0,15. No se encontraron datos en embarazos con menos de 37 semanas que superaran los 0,10.

FIGURA No. 1

La figura N° 2 muestra las curvas de las variaciones de la densidad óptica a las distintas longitudes de onda, con el

TABLA N° 2

Lectura de densidad optica y delta 450 en el ultimo trimestre del embarazo normal

S	365		450		550		650		Delta 450	
	X	DX	X	DX	X	DX	X	DX	X	DX
27	0,170	0,009	0,165	0,09	0,04	0,01	0,003	0,01	0,0715	0,002
28	0,211	0,033	0,189	0,033	0,065	0,007	0,046	0,008	0,0782	0,018
29	0,198	0,0398	0,169	0,039	0,054	0,013	0,036	0,013	0,0613	0,021
30	0,149	0	0,125	0	0,036	0	0,018	0	0,0474	0
31	0,178	0,017	0,157	0,024	0,052	0,009	0,032	0,006	0,0569	0,012
32	0,210	0,067	0,171	0,052	0,062	0,029	0,039	0,021	0,052	0,015
33	0,19	0,028	0,151	0,019	0,068	0,016	0,036	0,004	0,033	0,26
34	0,164	0,028	0,125	0,017	0,051	0,004	0,031	0,009	0,03	0,011
35	0,144	0,013	0,109	0,025	0,034	0,019	0,034	0,005	0,039	0,04
36	0,153	0,026	0,111	0,017	0,052	0,022	0,034	0,016	0,019	0,012
37	0,201	0,056	0,144	0,041	0,067	0,029	0,048	0,02	0,024	0,017
38	0,216	0,062	0,184	0,056	0,111	0,145	0,094	0,042	0,007	0,007
39	0,493	0,286	0,389	0,251	0,276	0,223	0,226	0,190	0,008	0,007
40	0,485	0,15	0,348	0,114	0,239	0,084	0,202	0,067	0,003	0,005
41	0,652	0,128	0,488	0,073	0,369	0,063	0,298	0,06	0,005	0,006
42	0,699	0,091	0,532	0,089	0,392	0,067	0,323	0,058	0,004	0,006
43	0,997	0,179	0,855	0,182	0,667	0,123	0,575	0,108	0,028	0,046

aumento de la edad gestacional. Se observa un paralelismo entre ellas excepto por un aplanamiento en la curva a 650 nm entre las semanas 27-36, segmento en el cual las longitudes de onda menores presentan una ligera elevación. Los valores de Delta DO 450 se graficaron en la figura N° 3, encontrando los menores valores para la semana 40 y una recuperación franca en la pendiente en la semana 42. Entre la semana 37 a 42 obtuvimos valores menores de 0,01. Las figuras 4 y 5 presentan los valores de los componentes quimicos estudiados (calcio, creatinina y fósforo inorgánico en la primera; glucosa, nitrógeno ureico y fosfatasa alcalina en la segunda). No se descubre tendencia bien definida en las curvas y sólo hay correspondencia apreciable para la creatinina y la fosfatasa alcalina.

Las curvas de regresión obtenidas para la predicción de la edad gestacional (variable dependiente "y"), conocida la densidad óptica (variable independiente

FIGURA No. 2

"x"), aparecen en las gráficas 7, 8, 9 y 10 con las respectivas fórmulas para cada longitud de onda. Se encontró la mejor correlación para 650 nm.

FIGURA No. 3

FIGURA No. 4

Análisis y conclusiones

Aunque es interesante la postulación de una cifra crítica a partir de la cual se hable de madurez pulmonar, parece más interesante la posibilidad de predecir en forma aceptable una edad gestacional, conocida la densidad óptica. Podría proponerse de todas formas un nivel mínimo de 0,10 leído a 650 nm para considerar maduro un líquido amniótico como se deduce de las gráficas.

Llamó la atención la elevación persistente de la curva a 650 nm aún en el post-término, con las pocas muestras que obtuvimos para estas semanas, lo

Las diferencias en el curso de las curvas entre las distintas longitudes de onda observadas en la figura 2 plantean la posibilidad de ubicar una paciente en determinada semana de gestación de acuerdo con las longitudes de onda en la que se aprecien variaciones de su pendiente, ya que la elevación en el último tramo de las curvas se produce en forma tanto más temprana cuanto menor es la longitud de onda de lectura.

Los valores de Delta 450 muestran una buena correlación con los valores propuestos por Mandelbaum⁸ ya que fueron menores de 0,01 después de la semana 37.

FIGURA No. 5

La única prueba comparativa de madurez pulmonar empleada fue la espuma estable. Utilizamos los parámetros originalmente descritos por Clements considerar lecturas dudosas como se propone en el último reporte Schlueter y Clements¹⁵. Nos resulta de utilidad la cualidad comprobada de esta prueba de no proporcionar falsos positivos en porcentajes apreciables y en nuestro medio no obtuvimos densidades ópticas pequeñas en muestras que produjeron "test" de Clements positivo (no es confiable).

La concentración de los componentes del líquido amniótico medidos sólo aportan orientación en la medida que sean independientes de las cantidades existentes en el suero materno o si evalúan relaciones entre las dos medidas. La superación de los 2 mg descrita para la

creatinina después de la semana 37¹¹ y la elevación de la Fosfatasa Alcalina total¹ se obtuvieron en nuestro estudio.

Debe insistirse en la excelente correlación que se observó con la fórmula obtenida para la predicción de la edad gestacional y de la alta probabilidad de realizar predicciones veraces, aclarando que su validez se presenta a partir de la semana 34, ya que mientras la nube de puntos describe una línea paralela al eje de las ordenadas hasta el valor de la semana 34, la curva de regresión tiende a acercarse a la vertical progresivamente. La fórmula obtenida es la siguiente:

$$\text{Edad gestacional} = 45 - \frac{1}{0,07 + 0,7 (\text{DO } 650 \text{ nm})} *$$

* Aproximando datos obtenidos.

Conclusiones

Las variaciones en las medidas de la densidad óptica a partir de la semana 34 muestran una tendencia definida que permiten utilizarlas en la predicción de la edad gestacional. Los 650 nm constituyen la mejor longitud de onda para emplear en la evaluación del embarazo, ya que además de proporcionar la mejor correlación con la edad gestacional, está demostrado que sufre menos la influencia de la concentración de otros componentes o contaminantes del líquido amniótico en las lecturas colorimétricas.

Como cualquier fenómeno biológico su análisis deberá enfocarse con los criterios de la estadística no paramétrica, de manera que aunque se efectuó un juicioso proceso matemático y se obtuvieron muy buenos resultados no deberán interpretarse como los de las ciencias exactas. Mantendremos, pues,

FIGURA No. 6

FIGURA No. 7

FIGURA No. 8

FIGURA No. 9

TABLA N° 3

**Variaciones de los componentes químicos del líquido amniótico
en el último trimestre del embarazo normal**

S	CALCIO		P. INORG.		GLUCOSA		BUN		CREATININA		FOSFAT. ALC.	
	$\bar{X}$	D $\bar{X}$	$\bar{X}$	D $\bar{X}$	$\bar{X}$	D $\bar{X}$	$\bar{X}$	D $\bar{X}$	$\bar{X}$	D $\bar{X}$	$\bar{X}$	D $\bar{X}$
27	5,3	0	2,3	0	35	0	6,2	0	1,0	0	9,0	0
28	5,13	0,04	1,5	0	44,33	7,36	13,3	3,3	1,3	0,01	11	1,414
29	5,58	0,821	2,9	0,689	57,8	15,27	9,92	2,85	1,8	1,36	10,8	5,77
30	5,05	0,35	1,35	0,05	47,5	7,5	11,5	0,6	1,25	0,15	15	0
31	5,7	0,31	2,5	0,24	48,8	11,9	10,25	3,7	1,25	0,23	14,1	3,64
32	5,58	0,68	2,57	0,336	36,66	12,8	15,16	8,25	1,58	0,5	29,83	25,30
33	5,1	0,08	2,3	1,06	10,0	0	6,63	4,23	1,26	0,20	15	7,07
34	5,7	0,4	2,1	0,81	38,2	4,8	13,48	2,26	1,98	0,30	24,28	8,9
35	5,28	0,3	1,9	0,57	33,3	11,78	10,63	2,1	1,6	0,34	21,25	5,76
36	6,22	0,97	1,38	0,64	44	5,8	11,8	2,9	1,75	0,23	19,33	7,13
37	5,77	0,47	2,13	0,86	28,7	15,9	14,9	6,23	1,9	0,56	18	6,7
38	5,5	0,73	1,74	0,66	28,3	5,6	21	11,04	2,2	0,84	24,8	1,32
39	6,3	0,9	2,72	0,26	26,7	2,36	15	2,94	2,7	0,54	72	22,76
40	5,53	0,88	2,33	0,14	28,14	12,9	0,5	5,85	2,57	0,99	81,61	32,74
41	6,17	0,74	1,7	0,28	31,7	2,36	11,3	2,36	2,0	0	100	21,6
42	5,9	0,6	2,05	0,85	32,5	7,5	23,5	9,5	1,3	0,2	47,5	2,5
43	5,2	0,49	3,27	1,11	20	4,1	11,7	7,8	2,15	0,4	133,3	77,17

la inquietud por continuar incorporando otros tipos de pruebas que faciliten el manejo del alto riesgo dentro de parámetros propios del tipo de pacientes que atendemos y con posibilidad de realización, aun en condiciones económicas precarias.

Resumen

En 84 muestras de líquido amniótico se realizaron lecturas espectrofotométricas diferentes longitudes de onda y se midió la concentración de algunos de los componentes del líquido. Se observa una variación definida en la densidad óptica con la edad de embarazo que permite utilizar esta variable en la predicción del tiempo de gestación, obteniendo la mejor correlación para los 650 nm. Mediante análisis estadístico computarizado se busca la manera de deducir una edad de gestación conocida la densidad óptica, concluyendo la fórmula de mejor probabilidad predictiva.

Determination of the optical density values at 650 nm in the amniotic fluid of normal pregnancy, between the 27 th and 43 rd. Week, as fetal pulmonary maturity index.

Summary

Some spectrophotometric readings at different wavelengths were made on 84 samples of amniotic fluid and the concentration of some of the fluid components was measured. A defined variation is observed in the optical density with the pregnancy age which allows to use this variable to foresee the gestation period, thus obtaining the best correlation for the 650 nm. Once the optical density is known, a computerized statistical analysis is applied to deduce a gestation age, hence concluding with the best predictive probability formula.

Bibliografía

1. ANGEL, G., "Interpretación diagnóstica del laboratorio clínico". E. Interamericana, México, 1978, p. 80.
2. ARIAS, F., ANDRINOPOULOS, G., and PINE-DA, J.; "Correlation Between Amniotic fluid optical density, L/S ratio fetal pulmonary maturity". *Obst. and Gynec.*, 51: 152, 1978.
3. CLEMENTS, J. A., and Col., "Assessment of the risk of the respiratory distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid". *The New England Journal of Medicine*. Vol. 286: 1077-1081, 1972.
4. COPELAND, W., Jr., STEMPEL, L., LOTT, J. A., COPELAND, W., Sr., and ZUSPAN, F., P.; "Assessment of a rapid test on amniotic fluid for estimating fetal maturity". *American J. Obst. Gynec.*, 130: 225, 1978.
5. GLUCK, L., KULOVICH, M. V., BORER, R. C., Jr., Brenner PH, Anderson, G. G., Spellacy, W., "Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis". *Am. J. Obst. Gynec.* 109: 440, 1971.
6. HASTWELL, G. B., "Amniotic fluid visual assessment of fetal maturity". *Lancet*, 1: 349, 1975.
7. LILEY, A. W., "Liquor amnii analysis in management of pregnancy complicated bay rhesus sensitization. *J. Obst. Gynec.* Vol. 82: 1359, 1961.
8. MANDELBAUM, B., LACROIX, G., and ROBINSON, A., "Determination of fetal maturity by spectrophotometric analysis of amniotic fluid". *Obs. and Gynec.* Vol 49: 471-474, 1967.
9. MOODLEY, J., et AL. Compariso of amniotic fluid optical density and foam stability test in predicting fetl lung maturity. *Obst. and Gynec.* Vol: 51: 490-493, 1978.
10. PACHECO, C., "Determinación de Delta 450 DO por fórmula matemática". En publicación.
11. PITKIN, R. M., SWIREK, S. J., "Amniotic fluid creatinine"; *Am. J. Obst. Gyn.* Vol.: 98: 1135, 1967.
12. RODRIGUEZ, S. A., VELASCO, CH., SUAREZ, M., "Espectrofotometría del líquido amniótico". *Rev. Col. Ginec. Obst.* Vol. XXIV 423-4344, 1973.
13. SBARRA, A. J., et al., "Correlation between amniotic fluid optical density and L/S ratio". *Obs. and Gyn.* Vol. 48: 613-615, 1976.
14. SBARRA, A. J. et al., "Relation between optical density at 650 nm and L/S ratio". *Obst. and Gyn.* Vol., 50: 723-724, 1977.
15. SCHLUETER, M., CLEMENTS, J. A., et al., Antenatal prediction of graduated risk of hyaling membrane disease by amniotic fluid foam test for surfactant. *Am. J. Obst. Gyn.* Vol. 134: 761-767, 1969.
16. SPELLACY, W. N., BUHI, W C., CRUZ, A. C., "Assessment of fetal lung maturity a comparison of lecitin/sphingomyelin ratio the test of optical density at 400 and 650 nm. *Am J. Obst. Gyn.* Vol 134: 528-531, 1979.