

CATEDRA DE BIOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS,  
UNIVERSIDAD DE ORIENTE

## *Evaluación del estado fetal mediante la espectrofotometría directa del líquido amniótico*

Por los Dres.:

DAVID URQUIZA,<sup>\*</sup> MIGUEL MIYARES,<sup>\*</sup> PIOTR TSAPOK,<sup>\*\*</sup>

Urquiza, D. et al. *Evaluación del estado fetal mediante la espectrofotometría directa del líquido amniótico*. Rev. Cub. Ped. 47: 4-5, 1975.

Se estudió el estado fetal en muestras de líquido amniótico de 163 gestantes de las maternidades norte y sur de Santiago de Cuba. En 144 casos normales se relacionó la curva espectrofotométrica con el grado de madurez fetal, encontrándose dependencia entre ambos parámetros. En 19 casos con Rh negativo, se comparó la curva espectrofotométrica obtenida con el grado de afectación fetal, según el método de Liley. El método utilizado se mostró de escaso valor práctico en la evaluación de la madurez fetal, debido al alto número de falsos positivos y falsos negativos; su valor es mucho mayor en el diagnóstico y pronóstico del conflicto Rh, donde resultó muy confiable.

### INTRODUCCIÓN

Bevis,<sup>1,2</sup> en 1952, al demostrar por métodos químicos la relación entre la presencia de bilirrubina, biliverdina y urobilinógeno en el líquido amniótico y la severidad de la afección fetal en el conflicto Rh feto-materno, convirtió el examen de este fluido en un gran auxiliar para valorar el estado del feto. La bilirrubina es, desde entonces, uno de los parámetros más utilizados en este sentido en la práctica diaria.

La bilirrubina del líquido amniótico presenta variaciones en relación con el grado de madurez fetal en las gestantes con un embarazo normal,<sup>3,7</sup> y en el conflicto Rh es un índice de gran valor en la estimación del estado fetal y de su grado de afectación por la enfermedad hemolítica.<sup>1,2,8,9</sup>

Además, se encuentra alterada en presencia de patologías fetales, tales como la anencefalia<sup>10,11</sup> y la obstrucción del tracto gastrointestinal.<sup>12</sup>

El *scanning* espectrofotométrico del líquido amniótico, evidencia la existencia de bilirrubina por la presencia de un "pico" de absorción a 450 milimicras, y se expresa la cantidad relativa del pig-

\* Instructor graduado de la cátedra de bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Oriente.

\*\* Candidato en Ciencias Médicas, Instituto de Medicina de Chernovitsi, URSS. Asesor de la cátedra de bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Oriente.

mento, como incremento de densidad óptica ( $\Delta DO$ ).

En nuestro país los estudios realizados con la espectrofotometría directa del líquido amniótico, han sido escasos y limitados; en nuestra región se emplea por primera vez el método utilizado en este trabajo, y es nuestro propósito evaluar la utilidad del mismo en nuestro medio, y extraer conclusiones en cuanto a su aplicación, para de este modo contribuir a la disminución de la morbilidad perinatal en la provincia.

#### MATERIAL Y METODO

Se estudiaron muestras de líquido amniótico procedentes de un grupo de 163 gestantes de las Maternidades Norte y Sur de Santiago de Cuba.

Las muestras fueron tomadas por medio de amniocentesis transabdominal, durante operación cesárea, o en el momento de la ruptura de la membrana amniótica en el transcurso del parto. El líquido fue recolectado y transportado en frascos de color ámbar, para protegerlo de la luz, y fue mantenido a una temperatura de 4°C hasta su estudio, generalmente pocas horas después.

Las muestras se centrifugaron a 5 000 r.p.m. durante 20 minutos, en una centrífuga de mesa Janetski T-23. El sobrenadante fue posteriormente filtrado.

En el estudio espectrofotométrico de las muestras se utilizó un espectrofotómetro SF-4A, y se determinó la densidad óptica desde 350 hasta 700 milimicras, y las lecturas se hacían con intervalos de 10 milimicras.

Los datos obtenidos fueron llevados a un eje de coordenadas, en la abscisa se colocaba la longitud de onda en escala lineal, y en la ordenada la densidad óptica en escala logarítmica, de acuerdo al método de Liley.<sup>2</sup>

Obtenida la curva espectrofotométrica, se trazó una línea de base desde 375 a 525 milimicras, rango donde hace su absorción la bilirrubina, en caso de estar presente, y se midió la diferencia de densidad óptica ( $\Delta DO$ ) entre la absorbancia de la curva y la línea de base a 150 milimicras.

Los  $\Delta DO$  obtenidos en las 144 muestras procedentes de gestantes normales, se realizaron con la edad gestacional por el método de  $X^2$ .

Los  $\Delta DO_{450}$  en 27 curvas espectrofotométricas de 19 gestantes con factor Rh negativo, fueron llevadas a una gráfica pronóstico de Liley.<sup>2</sup>

#### RESULTADOS

El gráfico 1 muestra una gráfica típica obtenida por el *scanning* espectrofotométrico de una muestra de líquido amniótico procedente de una gestante a las 40,2 semanas.

El  $\Delta DO_{450}$  como puede observarse, es de 0.

La curva del gráfico 2 procede de una gestante de 26 semanas de embarazo, se observa que la forma de la curva se aparta considerablemente de la línea de base.

El cuadro I muestra la frecuencia observada de los  $\Delta DO$  comprendidos en los intervalos señalados, de acuerdo a 3 grupos de edades gestacionales, se puede ver la mayor frecuencia relativa de las lecturas altas en el grupo de menos de 36 semanas.

Para cumplir las condiciones requeridas para la aplicación de la prueba estadística empleada, los datos fueron agrupados como indica el cuadro II. La prueba de  $X^2$  mostró diferencia significativa en la distribución de las lecturas entre los grupos de menos de 36 y más de 36 semanas, con una significación de 0,001. Esta misma

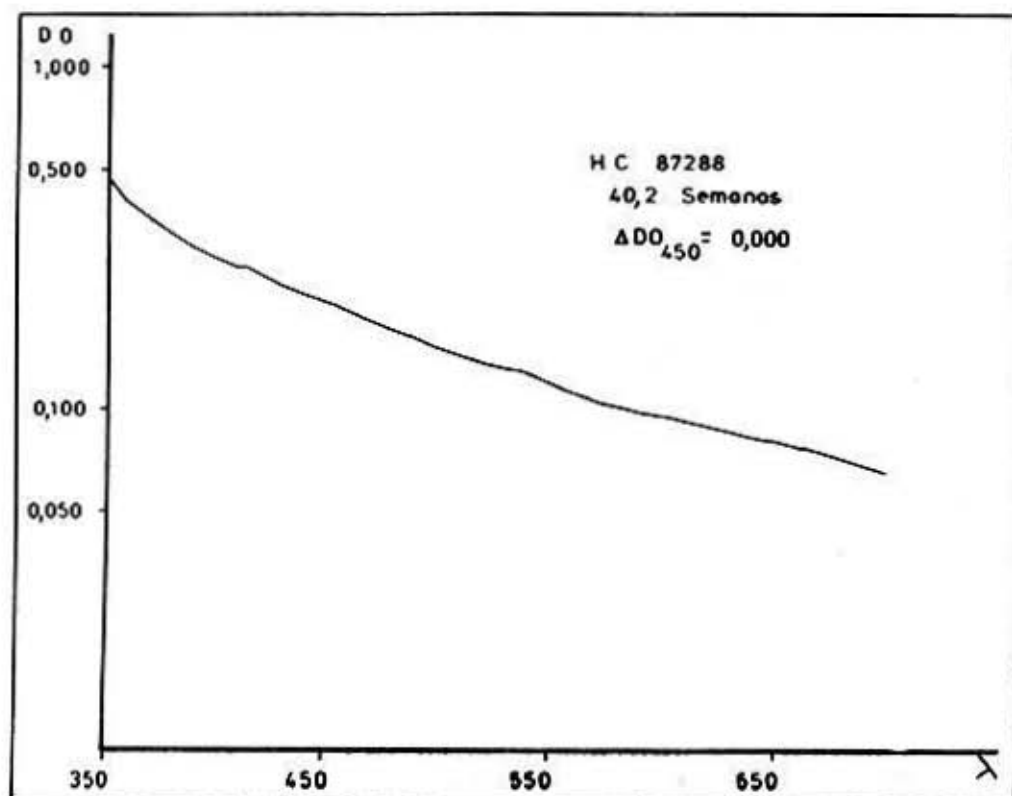


Gráfico 1.—Scanning espectrofotométrico del líquido amniótico en un embarazo normal a término. En la abscisa se ha colocado la longitud de onda en escala lineal, y en la ordenada densidad óptica en escala logarítmica. La línea recta obtenida es típica en muestras con estas características.

CUADRO I  
DISTRIBUCION DEL  $\Delta DO_{450}$  SEGUN LA EDAD GESTACIONAL.

$\Delta DO_{450}$	Edad Gestacional (Semanas)			Totales
	—36	36-39	40 o más	
0,000 — 0,009	6	36	62	101
0,010 — 0,019	1	6	9	16
0,020 — 0,029	2	5	2	9
0,030 o más	9	2	1	15
<b>Totales</b>	<b>18</b>	<b>49</b>	<b>77</b>	<b>144</b>

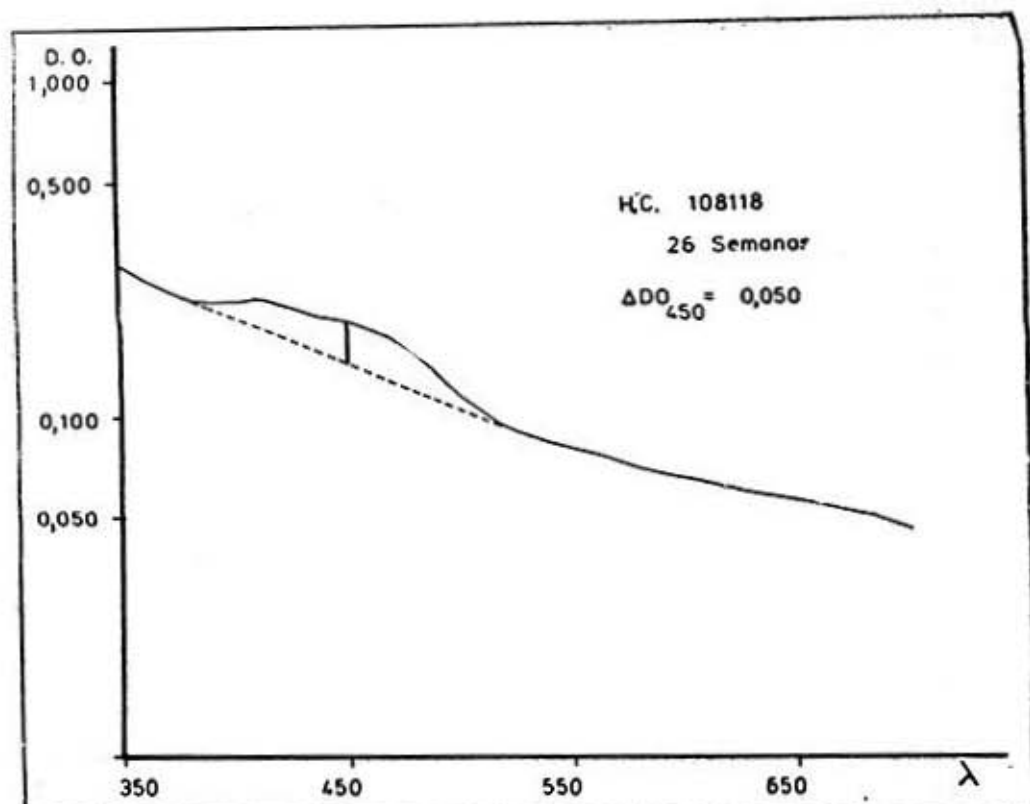


Gráfico 2—Scanning espectrofotométrico obtenido al estudiar el líquido amniótico de una gestante normal cuyo embarazo no ha llegado al término. La curva obtenida se aparta de la línea recta, con un máximo en las 450 milimicras, debido a la presencia de bilirrubina en este fluido de estos estadios del embarazo.

prueba no mostró significación entre los grupos de 36-39 y de 40 semanas o más.

De los estudios realizados con 27 muestras de líquido amniótico procedentes de las gestantes con factor Rh negativo, se obtuvieron 13 curvas con características normales, y 14 con características patológicas.

El gráfico 3 es el estudio del líquido amniótico procedente de una gestante Rh negativo, a la cual se le estudiaron 2 muestras, una a las 37,1 semanas y otra a las 38,2 semanas, que muestren un  $\Delta DO$  pequeño en una curva que se acerca mucho a la de una línea recta. El producto de este embarazo fue un neonato normal.

El gráfico 4 corresponde a otra paciente Rh negativo sensibilizado, con una edad gestacional de 30,4 semanas; se observa el alto pico de absorción en las 450 milimicras, lo que provocó una alteración notable en la forma de la curva, debida a la presencia de bilirrubina. Los estudios radiológicos y el desenlace de este embarazo mostraron un *hidropus fetalis*.

El gráfico 5 representa un lileygrama, al cual fueron llevados los resultados obtenidos en gestantes con factor Rh negativo; éstos están distribuidos en las distintas zonas hechas por Liley: una zona superior de fetos severamente afectados, una zona media para los moderadamente afectados,

## CUADRO II

DISTRIBUCION DEL  $\Delta DO_{650}$  SEGUN LA EDAD GESTACIONAL, CON LOS DATOS AGRUPADOS CUMPLIENDO LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA APLICAR LA PRUEBA DE  $\chi^2$  ( $p = 0,001$ )

Edad Gestacional (Semanas)	- 36	+ 36	Totales
$\Delta DO_{650}$			
0,01	6	98	104
0,01 o más	12	28	40
Totales	18	126	144

y una zona inferior de los normales. Los resultados obtenidos en diferentes estadios del embarazo en una misma gestante, aparecen unidos por una línea continua.

Como puede observarse, todos los resultados comprendidos en el intervalo dado por el lileygrama, con excepción de uno, muestran concordancia entre lo pronosticado y el estado del feto al nacer.

Así vemos, en la zona de más severidad, al *hidropus fetalis*, y a un feto muerto con tres muestras estudiadas: en la zona de afección moderada, un feto que inicialmente en esta zona, pasó, en un estudio posterior, a la de mayor severidad, y al que hubo que hacerle tres exanguinotransfusiones; otro al que se le realizó una exanguinotransfusión, y además, la excepción señalada, que encontrándose en el límite inferior de la zona de severidad media, fue normal; por último, todos los casos pronosticados no afectados, dieron lugar a fetos normales.

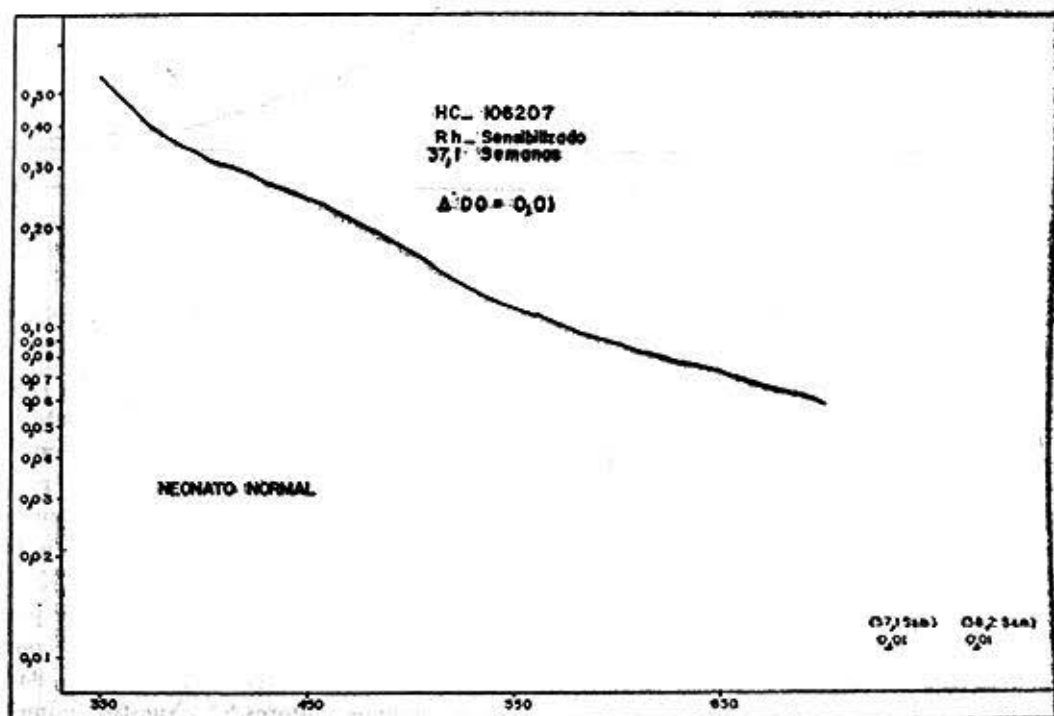


Gráfico 3.—Curva obtenida al realizar el scanning espectrofotométrico del líquido amniótico de una gestante con factor Rh negativo sensibilizado, en la cual se estudiaron 2 muestras, con un intervalo de una semana entre ambas amniocentesis. Los  $\Delta DO_{650}$  obtenidos fueron pequeños, aproximadamente la curva a una línea recta, tanto en la gráfica que se presenta como en la obtenida posteriormente. El neonato producto de este embarazo fue normal.

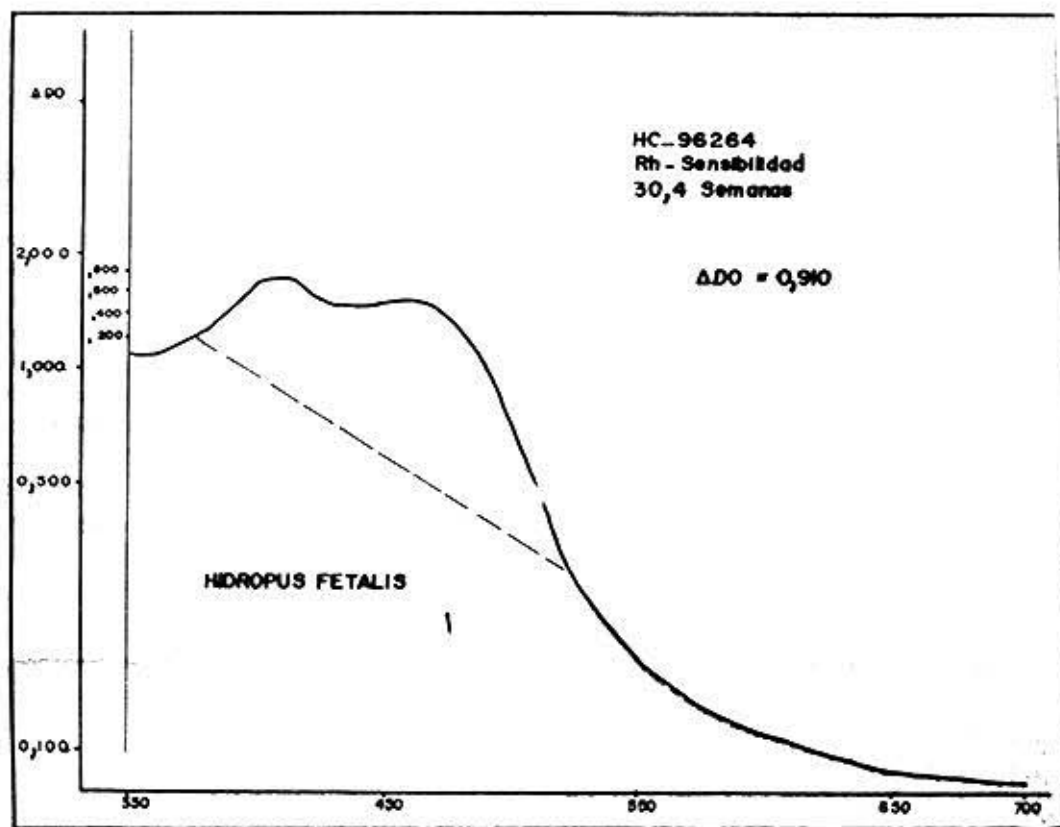


Gráfico 4.—Scanning espectrofotométrico del líquido amniótico procedente de una gestante con factor Rh negativo sensibilizado a las 30,4 semanas, cuyo embarazo condujo a un hidropus fetalís.

#### DISCUSION

Los resultados obtenidos en nuestro grupo de trabajo, al comparar los  $\Delta DO_{420}$  con los diferentes grupos de edades gestacionales, confirman que estos dos parámetros no son independientes, con lo cual coincidimos con la mayor parte de los investigadores que han estudiado este problema.<sup>5,7</sup>

El hallazgo de  $\Delta DO_{420}$  menores después de las 36 semanas, se ha atribuido a maduración, en este periodo, de los sistemas hepáticos encargados de conjugar la bilirrubina.<sup>7</sup>

Otros autores han sugerido un aumento de la deglución de líquido amniótico por el feto, con absorción de bilirrubina y

traspaso a la madre por vía placentaria, para su posterior eliminación.<sup>16</sup>

A pesar de la relación hallada entre el  $\Delta DO$  y la edad gestacional, la utilización de esta técnica en la evaluación de la madurez fetal, parece mostrar pocas perspectivas. El hallazgo en nuestro grupo de investigación, de un 33% de falsos negativos (6 casos de 18) y un 22% de falsos positivos (28 de 126), hace poco confiable el límite de  $\Delta DO = 0,01$  para discriminar madurez e inmadurez dado por algunos autores.<sup>4,6</sup> Nuestro número de falsos negativos es mayor que el reportado por Makovski<sup>17</sup> (12%); pero sin embargo, el de falsos positivos es mucho menor (54% según Makovski).

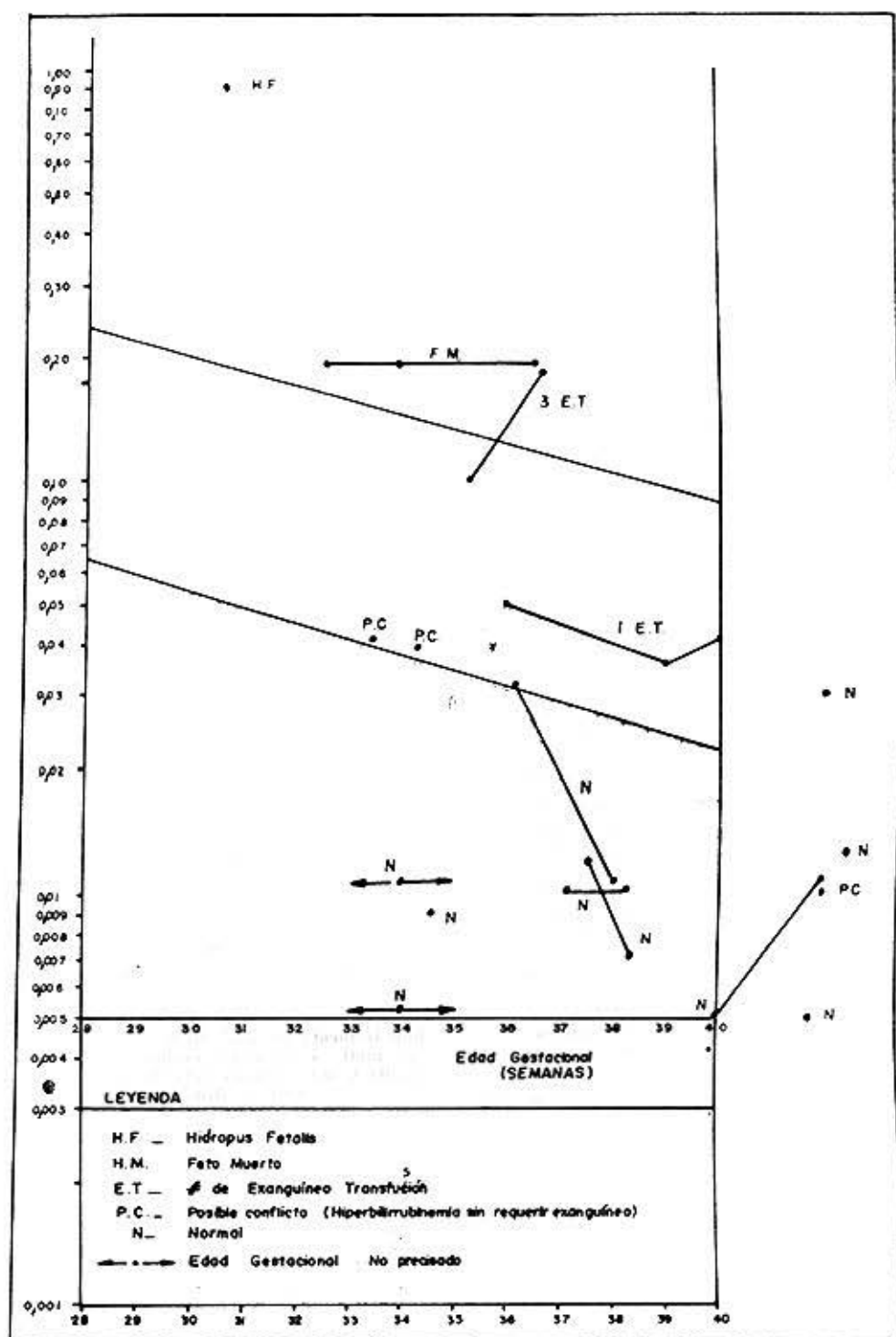


Gráfico 5.—Distribución de los  $\Delta DO$  en los casos con factor Rh negativos, estudiados en un gráfico pronóstico de Liley (Lileygrama). En la abscisa se encuentra la edad gestacional expresada en semanas, en escala lineal, y en la ordenada el  $\Delta DO$ , en escala logarítmica. Puede apreciarse la concordancia entre la ubicación zonal y el desenlace del embarazo.

Independientemente de estas serias dificultades en la utilización de esta técnica en la evaluación de la madurez fetal, creemos necesario un estudio más amplio que permita evaluar otros valores límites discriminativos.

En cuanto a la utilización de la espectrofotometría directa, según Liley en el estudio de gestantes Rh negativo, la verificación del pronóstico realizado en 13 de los 14 casos que se encontraron en el intervalo dado por el lileygrama, indican la utilidad de este método en estos casos.

Nuestros resultados muestran una gran exactitud en las zonas superior e inferior del esquema de Liley; sin embargo, en la zona media existen gradaciones, que sería conveniente poder discriminar. Esto corresponde con lo reportado por otros autores, que señalan un valor pronóstico mucho más correcto en aquellos casos de las zonas superior e inferior<sup>18</sup>.

Se hace necesario llamar la atención sobre las fluctuaciones de bilirrubina que aparecen en el líquido amniótico, y que se reflejan en el valor  $\Delta DO_{450}$ , ya que esto hace conveniente determinaciones seriadas con intervalos de 1 a 2 semanas, según la ubicación zonal del caso en su primer estudio. Nuestro caso, primitivamente en la zona media, que a la subsiguiente semana apareció en la zona superior, parece confirmar lo reportado en este sentido por otros investigadores.<sup>9, 16</sup>

#### SUMMARY

Urquiza, D., et al. *Assessment of fetal state by direct spectrophotometry of the amniotic fluid.* Rev Cub Ped 47: 4-5, 1975.

Fetal state was studied using amniotic fluid samples obtained from 163 pregnant women admitted at North and South Santiago de Cuba maternity services. In 144 normal patients, spectrophotometric curve was correlated to fetal maturity degree and a dependence of both parameters was found. In 19 Rh-negative patients, spectrophotometric curve was compared to the degree of fetal impairment according to the Liley's method. The method used was not useful for assessing fetal maturity due to the high number of false-positive and false-negative cases; it was much more useful and reliable for diagnosing and predicting Rh conflict.

#### RESUME

Urquiza, D. et al. *Evaluation de l'état foetal au moyen de la spectrophotométrie directe du liquide amniotique.* Rev Cub Ped 47: 4-5, 1975.

Mención aparte merecen los 5 casos de más de 40 semanas, y que no pudieron ser ubicados en el lileygrama; consideramos que este grupo debe ser objeto de un estudio posterior, ya que su poco número no nos permite hacer conclusiones sobre su comportamiento en relación al lileygrama.

#### CONCLUSIONES

1. El incremento de densidad óptica a 450 milimicras, no es independiente de la edad gestacional.

2. A pesar de ese hecho, la utilización práctica de esta técnica en la evaluación de la madurez fetal no es recomendable, debido al gran porcentaje de falsos positivos y falsos negativos observados.

3. El análisis espectrofotométrico del líquido amniótico por el método de Liley es de gran valor diagnóstico y pronóstico en el manejo de la isoimmunización Rh.

4. Las determinaciones en las gestantes con factor Rh negativo deben realizarse precozmente en una forma seriada, el intervalo entre una y otra está dado por el estado fetal pronosticado en el primer análisis.

5. Los resultados obtenidos en este sentido son tan alentadores, que recomendamos su utilización inmediata en nuestras maternidades.



On a étudié dans les services de maternité du nord et du sud de Santiago de Cuba l'état foetal au moyen des échantillons du liquide amniotique de 163 femmes enceintes. Sur 144 cas on a rapporté la courbe spectrophotométrique avec le degré de maturité foetale trouvant une dépendance entre les deux paramètres. Sur 19 cas Rh négatif on a comparé la courbe spectrophotométrique obtenue avec le degré d'altération foetale, selon la méthode de Liley. La méthode utilisée fut d'une faible valeur pratique dans l'évaluation de la maturité foetale, à cause du haut nombre des cas faux positifs et faux négatifs; sa valeur fut majeure dans le diagnostic et pronostic du conflit Rh où elle a résulté certaine.

## RESUME

Уркиса Д., и др. Оценка состояния плода посредством прямой спектро- фотометрии околоплодных вод. *Rev Cub Ped* 47: 4-5, 1975.

Изучалось состояние плода путем исследования околоплодных вод, взятых от 163 беременных, находящихся в родильных домах г. Сантьяго-де-Куба. В 144 случаях нормально протекающей беременности установлена взаимосвязь характера спектрофотометрических кривых со степенью зрелости плода. В 19 случаях резус-отрицательной беременности, сравнивали спектрофотометрические кривые со степенью порождения плода, пользуясь методикой Лилей. Примененный метод показал его ограниченное практическое значение при определении зрелости плода, так как имело место большое число положительных и отрицательных отклонений. Подчеркивается большое значение в диагностике и прогнозе резус-конфликта.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.—Bevis, D. C. A. The antenatal prediction of haemolytic disease of the newborn. *Lancet* 1: 395, 1952.
- 2.—Bevis, D. C. A. The composition of liquor amnii in haemolytic disease of the newborn. *J Obstet Gynaec Br Emp* 69: 244, 1953.
- 3.—Liley, A. W. Liquor amnii analysis in the management of the pregnancy complicated by rhesus sensitization. *Am J Obstet Gynec* 82: 1359, 1961.
- 4.—Mandelbaum, B. et al. Determination of fetal maturity by spectrophotometric analysis of amniotic fluid. *Obstet Gynecol* 23: 471-474, 1967.
- 5.—Parmley, T., E. Miller. Fetal maturity and amniotic fluid analysis. *Am J Obstet Gynecol* 105: 354-362, 3, 1969.
- 6.—White, C. A. et al. Role of chemical and cytological analysis of amniotic fluid determination of fetal maturity. *Am J Obstet Gynecol* 104: 667-670, 5, 1969.
- 7.—O'Leary, J. A., A. A. Bejian. Amniotic fluid fetal maturity score. *Obstet Gynecol* 38: 375-378, 3, 1971.
- 8.—Walker, A. H. C. Liquor amnii studies in the prediction of haemolytic diseases of the newborn. *Br Med J* 2: 376, 1957.
- 9.—Freda, V. J. The Rh problem in obstetrics and a new concept of its management using amniocentesis and spectrophotometric scanning of amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 92: 341, 1965.
- 10.—Knox, E. C. et al. Spectrophotometric measurements on liquor amnii in relation to the severity of haemolytic disease of the newborn. *Clin Sci* 28: 147, 1965.
- 11.—Fleming, A. F., A. J. Wolf. A spectrophotometric method for the quantitative estimation of bilirubin in liquor amnii. *Clin Chim Acta* 12: 67, 1965.
- 12.—Ovenstone, J. A., A. T. Connon. Optical density differencing: a new method for the direct measurement of bilirubin in liquor amnii. *Clin Chim Acta* 20: 397, 1968.
- 13.—Cassady, G., G. Cailliteau. The amniotic fluid anencephaly. Preliminary report. *Am J Obstet Gynecol* 97: 395-399, 3, 1967.
- 14.—Lee, T. Y., P. Y. Wei. Spectrophotometric analysis of amniotic fluid in anencephalic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 107: 917-920, 1970.
- 15.—Grimes, L. D., G. Cassady. Fetal gastrointestinal obstruction. *Am J Obstet Gynecol* 106: 8-12, 1, 1970.
- 16.—Fort, A. T. et al. Determinants of amniotic fluid bilirubin: fetal or maternal? *Obstet Gynecol* 38: 159-162, 1, 1971.
- 17.—Mckowski citado por White, C. A. et al.
- 18.—Kish, M. J. et al. Bilirubin estimation in amniotic fluid. A comparative study of 60 cases. *Am J Obstet Gynecol* 106: 592-596, 4, 1970.

Recibido el trabajo: diciembre 26, 1974.