



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

11217
124

LA ESTANDARIZACION DEL PERFIL DEL METABOLISMO INTERMEDIO EN EL LIQUIDO AMNIOTICO

DR. JESUS PEREZ SEGURA

DIRECTOR DE ENSEÑANZA Y EDUCACION PROFESIONAL

DR. SAMUEL KARCHENKO

DIRECTOR GENERAL
PROFESOR TITULAR

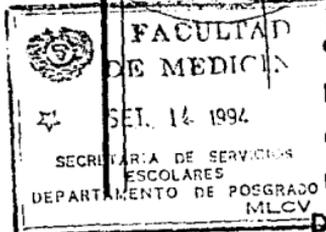
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y OBSTETRICIA

P R E S E N T A

DR. MARCELO FIDIAS NOGUERA SANCHEZ

Asesor de Tesis: Dr. Carlos Villanueva Díaz



INPer

MEXICO, D.F.

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

1994



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA:

A Don Fideas y Doña Amelia.

A Mi Madre, Maria del Carmen. A Mi Padre Marcelo.

A Mis Tíos Claudia y Horacio.

A Tzatzil.

Al Dr Karchmer

A la Salud de las pacientes.

A todos ellos por el incondicional apoyo que siempre me ofrecieron a través de estos años.

INDICE

1. Marco Teorico.....	1
2. Antecedentes históricos.....	14
3. Origen del líquido amniótico.....	19
4. Dinámica del líquido amniótico.....	23
5. Perfil bioquímico y hormonal del líquido amniótico.....	33
6. Material y Método.....	44
7. Resultados.....	47
8. Conclusiones.....	49
9. Bibliografía.....	50

MARCO TEORICO.

Uno de los principales problemas de salud en nuestro país se ubica en el renglón materno, en el cuál se han identificado diferentes factores que inciden en la morbi-mortalidad de la mujeres en la etapa reproductiva y en los niños desde la etapa fetal hasta la infancia, y que en algunos casos pueden causar secuelas permanentes con costos sociales inmesurables. Distintas alteraciones en este periodo tienen impacto directo en el crecimiento y desarrollo . Destacan los eventos de parto pretermino retardo en el crecimiento intrauterino, hipertensión inducida por el embarazo, diabetes mellitus, diabetes gestacional, eritroblastosis fetal , malformaciones congénitas. Hoy en día los problemas asociados a productos de bajo peso al nacimiento son una de las principales causas de morbi-morbilidad en los centros perinatales alrededor del mundo. Siendo de mayor impacto en países en vías de desarrollo . En el Instituto Nacional de Perinatología (INPer) el 40% de las causas de mortalidad neonatal son atribuibles a las complicaciones del parto pretérmino y/o a la desnutrición in útero y más del 50% de las causas de atención en las unidades de cuidados intensivos e intermedios neonatales (1). De acuerdo con la estadística del INPer , la tasa de mortalidad perinatal de 64 por cada 1000 nacidos vivos de

los cuales el 35% corresponde a las muertes fetales ocurridas en el segundo y tercer trimestre de la gestación y el resto a la muerte neonatal temprana.

El crecimiento intrauterino deficiente origina una serie de alteraciones en varios órganos fetales que muy probablemente serán expresadas más tarde en la vida del individuo. (2,3)

Ha sido preocupación de los especialistas relacionados en el área encontrar índices de dano fetal para que sirvan de auxiliares para la toma de decisiones diagnósticas y terapéuticas . La valoración del estado de bienestar fetal ha cursado por diferentes etapas en la historia de la Obstetricia, que va desde el aumento en el número de consultas en la evaluación prenatal hasta los métodos de diagnóstico a nivel molecular y terapia fetal (2,3), a pesar de ello en la actualidad hay escasa información de los índices pronósticos con respecto a la salud fetal , fundamentalmente por un escaso desarrollo de investigaciones de tipo básico y por lo que la mayoría de los índices utilizados son herramientas biofísicas como ultrasonido y cardiotocografía o índices epidemiológicos de riesgo que contemplan variables gruesas y dicotómicas de observación (4,6). A pesar de que estos elementos son de uso y valor universal , una importante fracción de la patología fetal escapa a la capacidad de identificación de estas pruebas o el diagnóstico se lleva a cabo tardamente. La detección del

dano en la actualidad se limita a mediciones de actividad neuromuscular y neurovegetativa en condiciones basales y pruebas de estrés , evaluación del desarrollo corporal , medición del flujo sanguíneo-placentario , detección de malformaciones congénitas y estudios clínicos de actividad cardiaca fetal, sin embargo se carece de métodos específicos y sensibles de evaluación de bienestar fetal.

De este modo se hace pertinente mencionar cuales son los instrumentos para la valoración fetal intrauterino que conocemos en la actualidad . En cuanto a la prueba sin estrés, tolerancia a la oxitocina y el perfil biofísico , es sabido que la monitorización del trazo cardiaco fetal , consiste en la utilización de un aparato formado por dos componentes , uno que reconoce y procesa la frecuencia cardiaca y otro componente que reconoce las contracciones uterinas (6) para el reconocimiento de la frecuencia cardiaca fetal analiza la frecuencias dando promedio de las registradas por el tococardiógrafo; el promedio de la frecuencia cardiaca al termino de la gestación normal es de 140 latidos por minuto , a la 20 semana de gestación este promedio es de 155 latidos por minuto, a la 30 semana de 133 latidos por minuto . Variaciones de 20 minutos por arriba o abajo de esta basal se considera variaciones normales en la gestación humana.

La actividad cardiaca fetal es igual a la del adulto pues tiene su propio marcapaso que resulta en un patrón

rítmico de contracciones . El marcapaso más rápido que regula la actividad cardiaca fetal es el del nodo-seno auricular , seguido por un segundo marcapaso auricular y posteriormente el último regulador es el marcapaso ventricular , así pues el feto con un bloqueo de rama completo tiene usualmente 50 a 60 latidos por minuto . De esta manera la frecuencia cardiaca fetal es el resultado de factores que modulan el latido cardiaco, y las señales más obvias que regulan esta actividad son las del sistema autónomo.

El sistema nervioso parasimpático , que lo constituye principalmente el nervio vago (10mo par craneal), que se origina en la médula e inerva el corazón . Fibras provenientes de este par, inervan al nodo seno atrial y también al atrioventricular , a la estimulación del vago con acetilcolina se demuestra una reducción de la frecuencia cardiaca fetal , de manera contraria bloqueando la actividad de acetilcolina con atropina la frecuencia se acelerará, además de que el nervio vago tiene otra función importante sobre el promedio de la frecuencia cardiaca fetal, es capaz de regular la variabilidad de los latidos cardiacos , al estimularlo con atropina la variabilidad en el patrón fetal, desaparece . Así, de esta manera identificamos dos influencias vagales sobre el feto, la primera es la característica tónica , que regula un latido con respecto al siguiente , y la otra es la característica oscilatoria , que establece la variabilidad de patrón cardiaco fetal . La influencia vagal se incrementa con la edad gestacional y la

hipoxia incrementa su actividad hasta 4 veces , y su estimulación en animales experimentales produce retardo en el crecimiento (7). Mientras que el sistema nervioso simpático tiene fibras nerviosas ampliamente en el sinsico cardiaco en los fetos a término. La estimulación de estas terminaciones hace secretar noradrenalina causando un incremento de la frecuencia cardiaca , además de tener un efecto inotrópico positivo. Las terminaciones nerviosas son un mecanismo de reserva para mejorar las características de bombeo cardiaco fetal en situaciones de estrés. El efecto bloqueador del propranolol sobre el sistema simpático es de reducir hasta el 20 % los latidos por minuto . La variabilidad sólo se ve afectada escasamente cuando se produce bloqueo simpático , así de esta manera la teoria que por mucho tiempo se sostuvo de que el control de la frecuencia cardiaca fetal y la variabilidad estaba dada por la influencia de estos dos efectos hormonales , uno vagal y otro beta adrenérgico, con la demostración del bloqueo atropínico , es poco probable que se lleve a cabo en los primates.

La presencia de quimiorreceptores periféricos y centrales en el sistema nervioso demuestran efectos dramáticos sobre el control de la respiración y circulación. Los quimiorreceptores periféricos están ubicados en los cuerpos carotídeos y aórticos y los centrales en el centro respiratorio en el tallo.

En respuesta al aumento de dióxido de carbono sanguíneo , la presión arterial se incrementa con fines de mejorar la perfusión a órganos afectados, los efectos generales de hipercapnia e hipoxia central son hipertensión y bradicardia fetal.

La prueba sin estrés , consiste en detectar la actividad cardíaca fetal, movimientos fetales, actividad uterina, de manera externa y notando la aceleraciones con respecto a los movimientos fetales, es decir la variabilidad del trazo . Estos parámetros han demostrado valores predictivos a la resolución perinatal. (8)

En una prueba con resultado no reactiva , ésta se asocia con muerte fetal y pobre resolución perinatal , valoración Apgar por debajo de 5 al minuto, en aproximadamente el 20% de los casos sin embargo la alta tasa de falsos positivos de este método (80%) hace su aplicación clínica pobre la evaluar al feto enfermo. Así de esta manera se complementa este método diagnóstico asociandolo a la aplicación de oxitocina para someter al feto a un periodo de estrés y valorar su reserva vital. En donde la tasa de falsos positivos también es muy elevada (50%) (9).

Desde la década pasada se han realizado numerosos estudios de la respuesta fetal a la estimulación vibroacústica en fetos con pruebas sin estrés no satisfactorias.

El oído fetal se forma desde la etapa embriogénica a partir del ectodermo , por medio de la placoda auditiva. Entre la 4a y 5a semana de gestación, el otocisto embrionario se divide en dos lóbulos que formaran la coclea y el laberinto . Desde el sexto mes de gestación el órgano de Corti y el tunel de Corti están presentes en toda la coclea, y a partir de la semana 24 de vida intrauterina , la coclea y el órgano sensitivo periférico alcanzan su madurez . En el adulto la respuesta al sonido se encuentra presente entre 20 y 20 000 Hz de frecuencia , in utero el oído humano responde a los estímulos vibroacústicos atenuados debido a que los canales auditivos están llenos de líquido, que reduce la frecuencia de sonido al llegar al tímpano. Por esta razón el feto humano debe responder sólo altas presiones de sonido, además de que la interferencia de sonido intramniótico es de aproximadamente 82 db según los estudios de Walker en 1971 (10).

Las primeras evidencias de la respuesta fetal a ondas acústicas fueron analizadas mediante la colocación de electrodos de EEG , en fetos durante el trabajo de parto, encontrando actividad neuroeléctrica en la respuesta al estímulo , llamadas las respuestas acústicas cerebrales , descrita por primera vez por Scibetta en 1971 (11). Las primeras respuestas acústicas cerebrales se registran desde la semana 26 a 28 , nunca antes de la semana 26. Las estimulaciones vibroacústicas producen un reflejo de respuesta a los 2.5 segundos y la respuesta de la frecuencia

cardiaca fetal a la estimulación vibroacústica se expresa en un inmediato incremento a la frecuencia cardiaca fetal a la semana 26 y desde la semana 30 con un aumento de la frecuencia cardiaca basal, también se aprecia una respuesta retardada del incremento de la frecuencia cardiaca fetal después de la semana 33, con un incremento en las aceleraciones y también de la línea basal. Sin embargo la elevada tasa de falsos positivos es decir el número de fetos enfermos que la prueba no detecta, ofrece poca sensibilidad de estos métodos. Desde 1980 Manning describe un innovador método de análisis, que reduce la tasa de falsos positivos llamado el perfil biofísico. La actividad cardiaca fetal se ve afectada por: asfixia crónica, hipoxia aguda y periodos de sueño fetal esta actividad es el reflejo del sistema nervioso central del feto, y el estado de gasto de energía del feto reflejando así su oxigenación, este método analiza cinco parámetros, combinando el ultrasonido modo B de tiempo real y la prueba sin estrés. La primera variable son los movimientos respiratorios fetales, y las siguientes variables lo son los movimientos gruesos del feto, el tono fetal, la frecuencia cardiaca fetal y la última variable consiste en la presencia de líquido amniótico normal. Así, de esta manera la mortalidad perinatal varía de manera inversa con la valoración del perfil biofísico, en el estudio inicial de Manning cuando todas las variables fueron normales la incidencia de mortalidad perinatal fue de 0 y cuando todas las variables fueron anormales la incidencia

fue de 400 por 1000. Este estudio fue planteado de manera abierta y prospectiva, analizando 1184 pacientes de alto riesgo , y obteniendo resultados de tasas de mortalidad perinatal corregidas más favorables que con la prueba sin estrés y con la prueba de tolerancia a la oxitocina , además de que el valor predictivo fue menor en relación a las falsas positivas (12).

Por otra parte se ha reconocido que nuestro organismo responde a distintos estados de agresión , como son el estado de shock, alteraciones metabólicas , estados infecciosos o respuesta orgánica al traumatismo. Con cambios entre consumo y gasto de energía , la fase de respuesta a la agresión y finalmente la respuesta per se (13), estas respuestas al dano orgánico se expresan en diferentes vías de utilización de energéticos , modificando diferentes vías del metabolismo intermedio y tienen denominadores comunes independientemente del estado nutricional previo , dano y terapia instituida (14).

Los cambios en el metabolismo intermedio que ocurren como respuesta a la agresión preceden a las manifestaciones clínicas como han sido demostrados en los casos de acidosis metabólica , sepsis trauma y shock (15). Esto ha permitido establecer perfiles metabólicos de dano. El impacto final de esta monitorización bioquímica ha modificado notoriamente la tasa de mortalidad en los principales centros de cuidados intensivos. Los parámetros que son considerados para evaluar la respuesta metabólica en el dano son las concentraciones

de aminoácidos en suero , metabolitos de lípidos y niveles hormonales.

La existencia de estos ajustes metabólicos a la agresión fueron originalmente postulados por Siegel en 1979 (16). Citando la secuencia de los desajustes ,metabólicos y fisiológicos en casos de sepsis , caracterizado por una sucesión de eventos , con una respuesta neuroendocrino caracterizada por un incremento en la secreción de glucagon, y sólo con un discreto aumento en la secreción de insulina, donde el catabolismo muscular juega un papel importante en el aporte de aminoácidos , como repuesta gluconeogénica. Así mismo, el metabolismo lípido esta afectado, la lipogénesis hepática disminuida y la lipólisis de tejido graso aumentada, de esta forma aumentando la liberación de triacilgliceridos , los ácidos grasos libres no estan incrementados, sugiriendo un incremento en su utilización probablemente por el músculo y por el tejido hepático Estableciendo así el patrón metabólico a la agresión.

El patrón metabólico a la agresión en líquido amniótico no está caracterizado y aún no se ha establecido el perfil del metabolismo intermedio en el líquido amniótico.

Existe una amplia evidencia de mecanismos de transferencia placentaria de sustancias seleccionadas indispensables para el crecimiento y desarrollo fetal. Estos productos han sido determinados en sangre materna ,fetal y líquido amniótico (17). La evaluación del líquido amniótico ha modificado el diagnóstico y tratamiento de diversas

entidades fetales que abarcan desde la detección de trastornos genéticos, con muestras tomadas por amniocentesis bajo guía ultrasonográfica, valoración de la madurez pulmonar fetal, eritroblastosis fetal, y determinación de alteraciones metabólicas, entre otros.

Con lo anterior debe suponerse que alguno (s) de los indicadores de trastornos fisiopatológicos que conducen a la alteración fetal son susceptibles a ser medidos en el líquido amniótico. Los aminoácidos de cadena ramificada, productos relacionados con el metabolismo intermedio de la glucosa, aminoácidos aromáticos y precursores de la síntesis de urea como índices de bienestar fetal.

De este modo se pretende estandarizar un método para la evaluación del estado fetal a través de la medición de un índice bioquímico como un método de bienestar fetal.

El muestreo prácticamente inocuo del contenido uterino, como lo es el líquido amniótico, puede permitir la predicción antenatal del estado del feto en los diferentes padecimientos que complican el estado gravídico. Su estudio ofrece valioso interés desde el punto teórico práctico. Este no representa un fluido estático intrauterino sino que constantemente se producen cambios tanto hacia la circulación materna como al organismo fetal y viceversa, dando lugar a complicados procesos químicos de homeostasis.

Las investigaciones publicadas en la literatura mundial

demuestran que existen conocimientos incompletos de los constituyentes bioquímicos del líquido amniótico en el embarazo normal haciéndose muy ostensibles si se trata de encontrar referencias en líquido amniótico para correlacionar clínicamente en embarazos patológicos. La mayor parte de los constituyentes químicos del plasma materno y fetal son probablemente demostrables en el líquido amniótico y el estudio de sus concentraciones relativas, juega un papel importante en el entendimiento de la fisiología de la gestación prometiéndose adquirir gran importancia en la práctica diaria perinatal. Los mecanismos de intercambio estudiados, muestran que el equilibrio del líquido amniótico es considerablemente más lento que los líquidos en el sistema materno.

El agua y algunos solutos pueden transferirse desde el organismo materno hacia el líquido amniótico directamente o pueden entrar a la circulación fetoplacentaria y de ahí ser secretados o difundidos al propio líquido, igualmente el agua del líquido amniótico parece ir directamente a la madre o puede pasar a través del feto con los estudios iniciales de Plentl puede demostrarse que por lo menos un 25% o más de la transferencia del líquido amniótico a la madre puede llevarse a cabo a través del feto, el resto del recambio el resto del recambio es directamente del sistema materno al amniótico (18). Esta información aunque lógica dista de la realidad puesto que determina únicamente uno de los sistemas de transferencia, por lo tanto, para disminuir el margen de

error dichas observaciones deben estar basada en el concepto de la determinación de tres compartimientos , espacio materno, espacio amniótico y espacio fetal. Se conoce que el agua se transfiere a través del amnios de adentro hacia fuera, mientras que los electrólitos lo hacen en el sentido inverso por esta razón a pesar de la ayuda que brindan los materiales de contraste, colorante o marcadora químicos o radioactivos, no se identifican todas la vías que sólo reflejan la dinámica de los indicadores y no la del vehículo original , agua , electrólitos y proteínas. Así mismo los sitios de transferencia no son sinónimos con los sitios de formación y eliminación del propio líquido. Por lo tanto el líquido amniótico es , hasta el momento , el resultado del intercambio dinámico de todos sus componentes por mecanismos aún desconocidos . La recopilación de datos precisos acerca del líquido amniótico en el sentido que se tienen en la actualidad pueden remontarse hasta 1825. Y el interés en su estudio fue escaso desde entonces hasta los tiempos modernos en 1935 a 1945 los trabajos publicados fueron esporádicos y desde entonces se ha observado un incremento gradual en su interés. No obstante la mayor parte de ellos han sido enfocados en forma unilateral y solamente en pocos se comparan los hallazgos en los tres compartimientos que juegan en la dinámica del líquido amniótico , esto es en lo que se refiere al embarazo normal, no existiendo en la literatura , más que una posible investigación nacional en la que se expresen estudios comparativos con respecto a los

tres compartimientos mencionados , haciendo comparación entre embarazos normales y patológicos, llevado a cabo por Karchmer.(19)

ANTECEDENTES HISTORICOS.

Es indudable que a través de los siglos , se ha visto el gran interés en los investigadores de descifrar el origen, significado, composición, circulación, dinámica y destino del líquido amniótico , no tan sólo como fluido vital sino por su estrecha relación con la vida y desarrollo fetal .Hipócrates (20) describió la explicación más antigua y sencilla sobre el origen del líquido amniótico atribuyendo su formación a los riñones fetales. Los epicureos lo consideraron junto con la sangre materna como el nutriente principal del producto in utero.

Spigelius en el año 1631, en su libro "DE FORMAT DE FOETU" coincidió con lo señalado por Rafus de Efeso y Vesalio, quienes suponían que el alantoides contenía la orina fetal, la cuál no debía ser bañada por el líquido amniótico que rodeaba al feto , puesto que aquella podía corroer la piel del mismo, dándose a conocer la primera versión sobre el vermix caseoso, pero no arriesgándose a establecer ninguna conclusión sobre la su naturaleza.

Posteriormente en la mitad del siglo XVI, el inglés Harvey describe en su tratado "DE GENERATION E ANIMATIUM" que el líquido amniótico constituía la fuente principal de

nutrición y que había de proveer al embrión de sus necesidades metabólicas, teoría que fue sostenida por Moellonbroec en el año 1672, citado históricamente por vez primera sobre la deglución del feto in útero. Everardur y Berger en las postrimerías del siglo XVI descubrieron un papel mucho más importante de líquido amniótico considerando que el feto aparece por una cristalización del mismo (21).

El primero en realizar un análisis químico de manera gruesa y rudimentaria fue Naedhan en 1677 y así conjuntamente con Bartholinus y Margarita de Tetre sostuvieron que el líquido intraúterino representaba únicamente un simple recurso coadyuvante del principal aporte nutritivo proporcionado por la sangre materna (21).

Así pues la continuidad con las descripciones sobre el origen y función del líquido amniótico continuaron, sin un método científico que pudiera verificar la autenticidad de éstas, así mismo Moriceau en 1687 sostenía de que a pesar de que el líquido amniótico contenía una gran parte sólida (el vermix caseoso) no tenía gran valor nutritivo en contraposición con lo que Romelius sostenía acerca de que este debía de cumplir más funciones sobre todo de tipo biológico. Lister a principios del siglo XVIII fue el primero en considerar que el líquido amniótico, en forma diferente al suero sanguíneo, no precipitaba con la exposición al calor concluyendo por ende que era pobre en proteínas.

Por esa misma época la respiración fetal fue motivo de

polémicas, así pues, Sponins en el siglo XVI afirmó que el feto respiraba pequeñas partículas de aire contenidas en el líquido a través de su árbol respiratorio, y que éstas eran secretadas por la placenta, lo cual demostró en la placenta en 1674 (20).

Posteriormente en la escuela Alenjandrina, Mazin en 1737 mencionaba en su libro compuesto de dos publicaciones, CONJETURE PHYSICOMEDICO HIDROSTATICAE DE RESPIRATIONE FOETUS, señalaba que el calor de las vísceras fetales hacía hervir el líquido amniótico, al igual que el calor del agua provoca ebullición y producción de vapor, y que el mismo principio utilizaba el feto para respirar las burbujas de la ebullición.

La primera apreciación organoléptica la hizo Schrader, en una publicación relativa a los animales, mostrando que el líquido amniótico era salado.

Con el advenimiento del siglo XVIII el interés siguió incrementándose con los trabajos de Vienssan en 1705 al describir que era dulce, Roder en 1750, que coagulaba con la ebullición y Radhes en 1753 al confirmar su inestabilidad térmica.

Al término de esta época observacional, comienza la era sobre las cualidades organolépticas del líquido amniótico iniciada por la analítica en la investigación química de Van den Bosch en 1792 que deduce de este tipo de estudios que el líquido amniótico contiene agua, minerales libres, muy poca sal común, ácido fosfórico, Alcalis estables

al calor y sustancias albuminosas. Scelle en 1801 observa que además de agua y sal común existe el "Salmiac" junto con trazas de fosfato de calcio. Por otra parte Vanquelin y Boniva en 1799 y 1801 analizan la materia cremosa que contienen y parece proceder de la piel fetal deduciendo entre otras observaciones la presencia de carbonato de calcio, una materia grasa característica y una materia albuminosa semejante a la grasa. Sumándose a estos trabajos se agregaron los de Lassaigne en 1821 quien haciendo análisis químico completo encuentra que el líquido contiene muriato de sodio y amonio fosfatado de calcio, sulfato de sodio y potasio, ácido láctico, ácido amniótico, mucino que contiene nitrógeno y albúmina (22).

Durante el siglo XIX también se retoma la condición de que el feto deglute in útero. Zweifel en 1876 opina que el feto lo hace en grandes cantidades pues es un medio nutricio por la albúmina que se encuentra en él, aunque en poca cantidad, lo que hace la deglución intensa. Waldeyer por su parte calcula la cantidad de líquido amniótico al final del embarazo, considerando una cifra media de 1000cc y como límites de la normalidad de 500 a 1500cc.

A partir de estos descubrimientos la inquietud y el interés al conocimiento de este líquido fue adquiriendo mayor importancia con el siglo XX el advenimiento analítico de la química y la investigación cualitativa por diferentes instrumentos ha sentado precedentes con los siguientes investigadores que han realizado nobles descubrimientos,

estas investigaciones marcan la nueva época de estudio sobre el líquido amniótico, y son iniciadas por Flexner, Hellman y Vosbourgh en 1948, Shaw y Marriot en 1949, Mengert y Boulard en 1950, Rosa y Cox en 1950, Cox y Chalmers en 1953, Plent y Gray en 1954 Nelson en 1954 Plent en 1957. (18,23).

En la actualidad, a los investigadores les es más interesante describir entidades que se relacionan a la clínica de la dinámica del líquido amniótico, sobre su osmolaridad y características organolépticas finas en relación con la transferencia hacia los compartimientos maternos. Entre estos autores destacan Abramovich describiendo las vías de transferencia entre el fluido amniótico y la unidad fetoplacentaria en embarazos a término. Este autor también interesado en la cantidad de líquido amniótico, como alteración clínica, relaciona la deglución y excreción urinaria fetal con la cantidad de líquido amniótico en embarazos complicados. (24) , Bain en 1960 asocia por primera vez que los fetos con agenesia renal o displasia tenía relación directa con la presencia de oligoamnios. (25). En cuanto a la relación de los compartimientos materno y amniótico , Godlin y Anderson publican sobre la expansión del volumen plasmático materno y el volumen del líquido amniótico en 1983 (26).

ORIGEN DEL LIQUIDO AMNIOTICO

Antecedentes históricos.

Aunque las primeras referencias de Hipócrates y Demócrites le atribuían su producción a los riñones fetales, teoría que habría de perdurar muchos siglos, fué en realidad hasta las observaciones de Portal en 1671 que de una manera convincente postulará que el líquido amniótico en efecto era producido por la orina fetal (20,27).

Hasta el siglo XIX, persistió la idea generalizada de que el líquido amniótico era formado por la excreción de orina fetal. Fue en 1855, cuando Preyers expusó ya en su obra clásica (28), que este líquido no sólo era producto de la orina fetal (excreciones), sino por secreciones, agregando en el sustancias que podrían pasar de la sangre materna hacia este. No fue hasta que Zunt y Gusserow a mediados del siglo XIX, estudiaron el origen y dinámica en este fluido, mediante la inyección de sustancias demostrables químicamente o morfológicamente, como lo fueron el benzoato sódico, indigo sulfato sódico, intentándose de esta manera establecer el paso al líquido y probar sus vías de difusión entre la sangre materna y el líquido amniótico. Sin embargo otros autores no admitían que la orina fetal era el único productor de líquido amniótico y así se derivaron nuevas teorías. Junbluth citó que este debería formarse por la extravasación proveniente de la porción placentaria del

amnios, Gusserow, que era procedente de los vasos del cordón umbilical. Polano en 1904 mencionó que la producción del epitelio amniótico jugaba un papel importante. Desde entonces se han publicado tesis y formulado hipótesis al respecto del origen del líquido amniótico (29), que han servido para formular un concepto multitudinario sobre el origen de este líquido. De una manera resumida aparecerá a continuación:

- a. Epitelio amniótico y su secreción activa.
- b. Trasudado pasivo de la sangre materna.
- c. Trasudado pasivo de la sangre fetal.
- d. Orina fetal.
- e. Origen mixto.

Así pues se podía derivar de estas postulaciones, de una manera clara que el líquido amniótico tenía su origen de una forma multifactorial y que provenía de tres compartimientos

básicamente; el materno el fetal y el amniótico y de estos compartimientos el menos conocido era el amniótico. No fue hasta los estudios morfológicos de Polano (19), quién por primera vez detalla con claridad la presencia de enzimas, grasas intracelulares y vacuolas de actividad secretora. No fue hasta más tarde que Bondi al insistir en la actividad secretora del amnios, identifica distintas enzimas en los granulos secretores del epitelio amniótico, entre ellas lipasas, diastasas, tripsina, pepsina, un fermento lipoproteínico análogo a la enzima del fermento fibrinoso,

recalcando así su carácter secretor. (30)

Posteriormente Evans (31), tinte de azul pirrólico el amnios y el líquido amniótico, por medio de su inyección regional a animales de experimentación, demostrando una vez más la calidad secretora de este epitelio. A través del siglo hubo autores que pensaron y sostuvieron teorías en las cuales trataban de demostrar que la totalidad del líquido amniótico era producido por este delgado epitelio cuboidal (32), hasta autores que por medio de técnicas histoquímicas lograron describir las células con borde en cepillo, el aparato canalicular de la zona de Golgi, los tuneles intracelulares de tránsito plasmático y la distribución de grasa libre en el epitelio, según la zona y la edad gestacional y la secreción de glucógeno sólo por el corión, haciendo patente a la unión corioamniótica no sólo como anatómica sino como unidad secretora.

En cuanto al papel que juega el compartimiento materno en la secreción del líquido amniótico, las observaciones originales de Cantarow (30) sugieren por vez primera que este líquido podría ser un derivado del suero materno y a medida que el embarazo progresaba su trasudación aumentaba. Por otra parte Makepeace (19), señaló que el líquido amniótico por contener una mayor concentración de creatinina, proteínas, menor cantidad de sodio y ligeramente mayor concentración de cloro al final del embarazo era hipotónico en comparación con el suero materno. Aunque por el contrario Cantarow (30) postulaba que el líquido

amniótico no puede ser unicamente producto del dializado materno, al analizar ambos líquidos al séptimo mes de la gestación y posteriormente al compararlo con otros líquidos de la economía materna.

Esta teoría de la trasudación del líquido por el suero materno continuo siendo apoyada por varios autores en estudios clínicos y biofísicos, como los de Shaw y Marriot en 1949, citados por Karchmer (19), los cuales precisaban que la presencia de polihidramnios estaba directamente influenciada por patologías maternas que afectaban el embarazo por ejemplo, insuficiencia cardiaca congestiva, insuficiencia hepática o renal pensando así que esta relación era la prueba más feaciente sobre la teoría de la trasudación.

En cuanto al compartimiento fetal se han postulado algunas teorías, desde las que por sus características no han sido aceptada de manera generalizada, hasta las que han tenido una trascendencia universal. Tratando de mencionar los aspectos históricos sobre la teoría de la trasudación de la circulación fetal, citada por Marriot y Shaw (19), se fundamenta en la observación de embarazos patológicos con alteraciones fetales estos mostraban alteraciones en la cantidad de líquido amniótico. Embarazos gemelares uniovulares o en aquellos con fetos con alteraciones del cierre del tubo neural, por ejemplo anencefalia, sugieren la participación de esta vía en la síntesis de líquido amniótico, observando que en los fetos anencefalos, la falta

de deglución y exposición meníngea al espacio amniótico contribuyan de manera directa a presentar alteraciones en la cantidad de líquido; sin embargo, la teoría que desde Hipócrates ha predominado ha sido la de la orina fetal en la producción del líquido amniótico, siendo ésta de las más aceptadas.

DINAMICA DEL LIQUIDO AMNIOTICO.

La información básica y clínica que describe la evidencia de la formación y regulación del líquido amniótico es una parte importante del conocimiento que el clínico debe manejar para poder integrar diagnóstico de patología perinatal.

Durante las últimas semanas de la gestación humana Elliott cita (33) que el volumen intrauterino de agua aumenta de manera aritmética entre 30-40cc diarios , al término la acumulación total de agua varía entre 2800 y 4000cc contenidos en el feto, 400cc contenidos en la placenta y 800cc contenidos en el líquido amniótico.

Con estudios volumétricos, técnicas dilucionales y más recientemente con análisis logarítmicos con métodos ultrasonográficos, Queenan (34) analiza al incremento progresivo de este fluido corporal, desde los 200cc a la semana 16 hasta una media de 980 cc a la semana 34-35, posteriormente con una disminución paulatina, que se observa en los embarazos postérmino con una media de 150cc semanales

a partir de la semana 40.

Para comprender la dinámica del líquido amniótico es necesario comprender la biología del transporte de agua. El transporte activo de agua no ha sido demostrado en tejidos biológicos, así pues su acumulación en membranas corporales ocurre sólo por mecanismos pasivos que responden a las teorías de gradientes de concentración y osmóticos. Sin la existencia de estos gradientes el transporte de agua no se llevaría a cabo. Se ha demostrado mediante investigaciones la existencia transplacentaria de gradientes químicos que serían responsables del transporte de agua. Existe una dificultad técnica para la comprensión de los factores involucrados en la regulación del agua intramniótica, es la interpretación de estudios que exploran el movimiento de agua marcada isotópicamente, los movimientos difusionales de las moléculas de agua no proveen una información reelevant sobre el intercambio de volumen y esto es ilustrado mediante el hecho de que la sangre pasa a través de un capilar y que cada molécula de agua se difunde a través del capilar libremente unas 100 veces. Por esta razón los estudios que analizan la difusión de moléculas de agua no tienen la capacidad para analizar los cambios de volumen, por que su resolución sería de una relación de una parte en 10 000. En las últimas semanas de la gestación humana la excreción de orina y los movimientos de deglución del feto son dos de las vías de formación y reabsorción del líquido amniótico. En etapas tempranas del embarazo se pueden

encontrar considerables cantidades de líquido antes de que el feto inicie sus funciones urinarias o de deglución. Aunque la formación del líquido amniótico en etapas tempranas del embarazo no ha sido estudiada, el posible mecanismo de producción es el transporte activo de solutos a través del amnios hacia la cavidad amniótica involucrando el movimiento pasivo de agua por gradientes de concentraciones químicas.

Se consideraba que el líquido amniótico era un fluido de características estáticas, sin embargo Gitlin y cols. (13 CR) sembró las bases de la dinámica de este espacio al inyectar diferentes tipos de proteínas en cavidades amnióticas de mujeres embarazadas, encontrando que eran reabsorbidas con una misma tasa de absorción en un día. Debido al análisis exponencial de la reabsorción, corresponde que el 95% del total del líquido amniótico es recambiado durante un día. Sin embargo otros autores como Lotgering, con estudios de sustancias radiomarcadas menciona que la velocidad de recambio calculada anteriormente es mucho menor a la observada por estos marcadores y que en promedio es de 3 horas.

Orina fetal.

Es uno de los principales contribuyentes a la formación de líquido amniótico en la segunda mitad de la gestación

(36). Kurjak en 1981 analizó embarazos normales mediante ultrasonido midiendo el incremento sostenido de la producción urinaria a través de la segunda mitad del embarazo. La producción de orina por kilogramo de peso se incrementa aproximadamente de 110cc -kilo-día, en la semana 25 hasta aproximadamente 190cc kilo-día en la semana 39, al término la orina fetal se excreta en una tasa aproximada de 500 a 600cc por día. Por lo que cualquier condición que interfiera en la entrada de orina a la cavidad amniótica producirá oligoamnios. En 1960 Bain y Scott analizaron 50 embarazos con malformaciones urinarias fetales incluyendo 28 agenesias, 17 displasias quísticas severas y 5 atresias ureterales, observaron oligoamnios en todos los casos a excepción de uno (25).

Aún en condiciones patológicas se ha podido demostrar que el líquido amniótico esta disminuido a expensas de una reducción en el volumen urinario excretado por día, de esta manera Van Otterlo y cols, demostraron que los embarazos con retardo en el crecimiento intrauterino cursan con oligoamnios por disminución en la excreción urinaria (37).

En las embarazadas diabéticas en las que la hiperglicemia condiciona al aumento en la osmolaridad renal con el consiguiente aumento en la filtración renal de agua para compensar la osmolaridad, sólo se han identificado 32% de pacientes con este hallazgo (36).

Movimientos de deglución fetales.

El feto comienza a deglutir casi al mismo tiempo en que la orina fetal ocupa el espacio amniótico, entre la semanas 8 y 11. Al final de la gestación el volumen deglutido llega a ser de 200 a 450cc por día (38). Estas observaciones no incluyen la cantidad contenida en la traquea o pulmones fetales. El proceso de deglución fetal es un mecanismo importante en la regulación de líquido amniótico, pues una alteración en este mecanismo significa alteraciones en el volumen de líquido, por ejemplo los fetos con atresia esofágica tendrán polihidramnios.

Tracto respiratorio fetal.

Al contrario de lo que se conocía de que el líquido amniótico contenido en la traquea y pulmones fetales provenía de una corriente que penetraba del exterior hacia las vías respiratorias del feto. En la década de los sesentas se demostró que ésta cantidad de líquido era producida por secreción del epitelio respiratorio. Sin embargo la producción pulmonar de líquido amniótico en relación al total de volumen no se conoce.

Membranas corioamnióticas.

El amnios y el corion proveen una amplia superficie de transferencia para el agua y solutos, jugando un papel

importante en el balance de líquido amniótico. Observaciones de la década pasada hacen notar que la transferencia de agua en las membranas corioamnióticas se lleva a cabo de manera unilateral, de la célula cúbica amniótica al espacio amniótico, y el intercambio de electrólitos se lleva a cabo de manera inversa. Mediante observaciones indirectas se puede estimar que la secreción corioamniótica es de 300cc por día en embarazos de término. La fuerza de transporte que permite este movimiento se debe a la baja osmolaridad del líquido en comparación con el intersticio corioamniótico (39). Los estudios de Heberton comprueban que en los embarazos que cursan con oligoamnios, las membranas corioamnióticas están reducidas a la mitad de su grosor, comparadas con embarazos normales, mientras que los embarazos que cursan con polihidramnios éstas están aumentadas de grosor.

Piel fetal.

Podemos pensar que una gran cantidad de líquido amniótico proviene del transporte de fluido a través de la piel fetal, que es altamente permeable durante la primera mitad del embarazo. Durante la semana 24 a 25 la piel fetal se queratiniza y después de este periodo solo existe transferencia de pequeñas partículas de lípidos y moléculas pequeñas como las de CO₂. Además el metabolismo del agua y las pérdidas sensibles a través de la epidermis son mayores en neonatos prematuros que en los nacidos a término y en los

neonatos de menos de 30 semanas estos fenómenos se incrementan dramáticamente.

Otras fuentes de producción de líquido amniótico.

La trasudación del líquido a través del cordón umbilical y la placa corial contribuye a la formación del líquido amniótico, aunque la densidad de estas superficies es tan grande que la cantidad de líquido sólo podría contribuir en un porcentaje muy bajo. También se ha mencionado que el feto transpira, además de considerar que la producción de saliva del feto podrían contribuir en un porcentaje de la producción de este líquido (40).

Osmolaridad del líquido amniótico.

Durante la primera mitad del embarazo la composición de electrólitos y la osmolaridad del líquido amniótico es igual a la del suero materno y fetal. Después de la queratinización la osmolaridad progresivamente baja alcanzando valores de 260 mOsm, cercano al término. La baja osmolaridad del líquido amniótico se debe al influjo de orina fetal (80 -140mOsm) (41).

Regulación del volumen del líquido amniótico.

La apreciación clínica más simple que nos hace suponer que el líquido amniótico está regulado en su volumen, es la cantidad de éste cercana al término, que cae dentro de un amplio margen de variación 500-2000cc. Aunque para que la acumulación del líquido amniótico se lleve a cabo existen varios mecanismos, es una apreciación universal que la regulación de este fluido está dada por varios flujos de entrada al espacio amniótico y salida de éste por medio del tejido fetal. A respecto es necesario citar 3 determinantes de flujos hacia el espacio amniótico y vías de depuración del mismo: Regulación de los ingresos y egresos por parte del feto, influencia materna sobre el balance del líquido amniótico y transferencia de agua y solutos a través de las membranas.

La permeabilidad de las membranas coriamnióticas es una superficie de intercambio de agua y solutos de gran importancia por su gran superficie. Sin embargo se sabe poco de la ultrafiltración y permeabilidad de las membranas in vivo, por ejemplo se sabe que hay un aumento de la osmolaridad amniótica, seguida de una inyección de solución hipertónica en borregos experimentales.

Interpretando esta situación como un aumento del movimiento transmembrana en el espacio amniótico (42).

Acerca de la regulación del fluido intramniótico se

sabe que la regulación del gasto urinario fetal esta dada por mecanismos endocrinos regulados por vasopresina, aldosterona, angiotensina II y el péptido atrial natriurético. En cuanto a los mecanismos de control en la deglución del feto humano poco se conoce, sin embargo los estudios de Brace en animales de experimentación demuestran que la deglución del líquido amniótico se incrementa con la edad gestacional y tanto la frecuencia como la cantidad de deglución depende de la salida de líquido pulmonar a través de la traquea o el volumen del contenido gástrico, estos movimientos de deglución ocurren episódicamente, se reducen llegando al término de la gestación o en casos de muerte fetal (43). Estudios en humanos demuestran que los movimientos de deglución en el feto cesan al iniciar el trabajo de parto, sugiriendo que la deglución termina al inicio del trabajo de parto, según Carmichael (40).

Tomando en consideración los mecanismos de regulación de ingresos y egresos de fluido que realiza el feto se debe mencionar que el líquido amniótico sirve como reservorio para el feto y estos mecanismos parecen ser fisiológicos desde la segunda mitad del embarazo, siendo razonable asumir que el feto puede controlar el balance de líquidos a través del volumen del líquido amniótico. Es decir, un feto sobrehidratado puede transferir este exceso hacia la cavidad amniótica y también de manera inversa.

Finalmente el ambiente materno puede influenciar en la

dinámica amniótica, debido a que el líquido amniótico se mueve libremente a través de la sangre materna y fetal, los cambios patológicos agudos o crónicos en la madre afectan directamente el balance del líquido amniótico. Estudios en animales de experimentación demostraron que el manejo del volumen materno con depleción severa de sodio por 6 días causaba una depleción del volumen plasmático y de iones sodio con aumento en el volumen amniótico de manera indirecta (43).

Para tratar de caracterizar un perfil bioquímico en el líquido amniótico por separado de los compartimientos materno y fetal que están en relación de la salud fetal, es necesario establecer la correlación de diferentes metabolitos en el espacio amniótico.

Aunque los estudios en la literatura sobre este tema son múltiples aún existen campos de investigación de gran interés. Las investigaciones clínicas, con sustancias radiomarcadas, sobre la dinámica del líquido amniótico establecen que cada elemento posee un sistema de transferencia que es propio. Así pues que la mejor manera de caracterizar un perfil bioquímico en el líquido amniótico es la medición exacta con métodos científicos muy precisos como la cromatografía líquida de alta resolución .

PERFIL BIOQUIMICO Y HORMONAL DEL LIQUIDO AMNIOTICO.

Aminoácidos.

Muchos aminoácidos en el líquido amniótico son transportados activamente a través de la placenta. En todas las especies investigadas la concentración total de los compuestos alfa-amino nitrogenados es mayor en el plasma fetal comparado con el plasma materno (47). Los aminoácidos neutros utilizan tres sistemas diferentes para su transporte. En la placenta humana está descrito el sistema A (alanina) con paso preferencial para alanina, glicina, prolina, serina, treonina y glutamina. El sistema L preferencialmente transporta leucina, isoleucina, valina, fenilalanina, alanina, serina, treonina y glutamina. Y el sistema ASC que preferencialmente transporta alanina, serina, cisteína, treonina y glutamina. Estos sistemas de transporte dependen de un gradiente transmembrana de sodio, aparentemente controlado en la membrana plasmática basolateral del trofoblasto. Este gradiente es mantenido por actividad de una bomba de sodio, potasio y ATP. El transporte de los aminoácidos puede ocurrir en condiciones aerobias y anaerobias, pero el transporte activo cesa cuando hay una alteración en el aporte de energía (glucógeno). El transporte de aminoácidos por el sistema A de la placenta aparentemente no está influenciado por insulina, en animales de experimentación el transporte de aminoácidos por la

placenta se ve reducido al haber disminución del aporte sanguíneo, sin embargo, no se ha visto cambio en el aporte de aminoácidos a fetos de borregos, al someter a la madre a un ayuno de 5 días, a pesar de que el aporte sanguíneo y la utilización de aminoácidos por el útero se ven disminuidos en estas condiciones.

Se ha observado en animales de experimentación el flujo de aminoácidos a la circulación umbilical, encontrando que existe un flujo negativo para ácido glutámico, el cuál se acumula en la placenta proveniente de la circulación fetal; viendo que este aminoácido es el principal constituyente de las proteínas totales del feto, aparentemente es formado por este mismo. Por otra parte, los flujos netos hacia la circulación umbilical de varios aminoácidos neutros y básicos (valina, leucina, isoleucina, arginina, fenilalanina y tirosina) se encuentran en exceso para los requerimientos basales, sugiriendo que estos aminoácidos son utilizados para funciones aparte de la síntesis de tejido fetal. Además hay un flujo neto hacia la circulación umbilical, proveniente de la placenta, para los aminoácidos básicos, lisina y arginina, de manera individual, para estos el gradiente de concentración arterial es mayor en el suero materno que en el fetal, condición opuesta a lo que sucede para los otros aminoácidos. En cuanto a aminoácidos especiales, el glutamato, se procesa diferente en la placenta humana, no existe abastecimiento de éste, a través de la arteria uterina, por el contrario la circulación umbilical lo

remueve hacia la placenta. La glicina y la leucina no han sido detectadas en la circulación uterina, y se piensa que son productos placentarios. En decantados e hidrolizados de placenta existen grandes cantidades de dipeptidasas, especialmente para glicil-L-leucina y glicil-L-glicina sugiriendo su utilización placentaria.

Proteínas.

Es bien conocido la casi total impermeabilidad placentaria a las proteínas plasmáticas maternas circulantes, los fetos analbuminémicos nacen con cantidades extremadamente disminuidas de albúmina, mientras la madre mantiene circulando grandes cantidades de ésta. Es se debe a un mecanismo de poro membranal placentario, capaz de excluir proteínas suficientemente pequeñas. Así de esta manera las hormonas proteicas producidas por el trofoblasto se encuentran en mayores concentraciones en plasma materna que en plasma fetal.

La albúmina constituye la fracción más abundante de la síntesis proteica hepática, siendo sintetizada de manera exclusiva por el hígado fetal. Durante el embarazo existe una tendencia a su disminución a medida de que el feto avanza, mientras que las fracciones globulínicas alfa, beta y gama, aumentan. (19) En los embarazos complicados con toxemia y diabetes se encuentra una franca disminución de albúmina en sangre fetal. Las alfa globulinas se forman al

parcer también en el hígado, pero la fracción protrombínica aparentemente está dada por la placenta. Las beta globulinas no son formadas en el hígado y su aumento durante el embarazo puede estar relacionado con el metabolismo del colesterol. Las gama globulinas, provenientes del sistema reticuloendotelial, tienden a disminuir en relación al estado de depresión inmunitaria que ocurre durante el embarazo.

Lípidos.

Existe evidencia del paso libre transplacentario de ácidos grasos libres (AGL) en las placentas hemocoriales de los humanos. Las mediciones de diferentes AGL demuestran un gradiente de concentración del plasma materno al encontrado en la circulación umbilical, siendo mayores en la circulación umbilical. La única excepción es el ácido araquidónico. Una de las condiciones que afectan el transporte placentario de los AGL es la disminución de perfusión placentaria.

Hormonas esteroides.

Al principio de la gestación el cuerpo lúteo sintetiza los estrógenos, hasta que la placenta asume el papel más importante en su síntesis hacia la octava semana. La placenta no produce estrógenos de novo, sino que utiliza el colesterol materno para su producción, o la aromatización de

andrógenos maternos (48). La placenta humana puede convertir colesterol a pregnenolona, y dehidroepiandrosterona a estrógenos.

Progesterona.

Las concentraciones en plasma materno en la segunda mitad del embarazo varían de 245 nmoles sobre litro, más o menos 20, y en el plasma fetal de 408 nmoles sobre litro. La placenta produce 250-600 mgs por día de esta hormona y uno de los factores más importantes en la regulación de la secreción es la acción de ACTH sobre la enzima de separación de la cadena lateral del colesterol. Las concentraciones de esta hormona no han sido establecidas en el líquido amniótico con exactitud.

Estrogénos.

La placenta gracias a su capacidad de conversión de pregnenolona a progesterona juega un papel importante en el suministro de sustratos para la síntesis de estrógenos, además de su gran actividad de sulfatasa placentaria, que brinda sustrato para las vías mineralocorticoideas y glucocorticoideas, el feto posee una gran capacidad de producción de estrógenos débiles como estriol, a partir de la actividad enzimática de la 16 alfa hidroxidehidroandrosterona. Las concentraciones de estriol en el compartimiento materno varían de 40 mmol sobre litro, a

44 mmol; y en el plasma fetal de 279 mmol a 304 mmol sobre litro.

Hormonas seleccionadas.

En cuanto a otros diferentes tipos de hormonas en relación a sus concentraciones en los diferentes compartimientos, es poco lo que se sabe sobre éstas en el líquido amniótico, sin embargo existen estudios sobre sus concentraciones en los compartimientos fetales y maternos, por ejemplo: Hormona de Crecimiento; en nanogramos sobre mililitro en el plasma materno sus concentraciones son de 4.7 y en el plasma fetal de 22.2, la Somatostatina; en microgramos sobre mililitro, en plasma materno es de 23 y en plasma fetal de 27, Insulina; en microunidades sobre mililitro, en plasma materno de 10.1 y en plasma fetal de 8.2, Glucagon; en picogramos sobre mililitro, en plasma materno de 72 y en plasma fetal de 69; Cortisol, en microgramos sobre mililitro, en plasma materno de 55 y en plasma fetal de 7; Gastrina, en picogramos sobre mililitro, en plasma materno de 53 y en plasma fetal de 84; Gonadotropina coriónica, en unidades internacionales sobre mililitro, en plasma materno 9.5 y en plasma fetal de 0.027 y de Prolactina en nanogramos sobre mililitro, en plasma materno de 251 y en plasma fetal de 360.

Glucosa.

A partir de los estudios de Claudio Bernard en 1855 se estableció la presencia de glúcidos en el líquido amniótico, la investigación cuantitativa de Labat y Favreau en 1921, postularon la presencia de este compuesto en el líquido amniótico, William y Bergen establecieron como promedio 19.6mgs por decilitro. De estas observaciones crecieron los análisis al respecto, hasta poder identificar la dinámica de la glucosa en el líquido amniótico, estableciendo que, durante los primeros 4 meses de embarazo los niveles promedio de glucosa eran más elevados que para el término, es decir, la glucosa disminuye a través que la gestación progresa, y para el tercer trimestre son de un tercio con respecto a la glicemia materna. (30).

Karchmer en 1970, en su análisis de líquido amniótico y sangre fetal encontró que en el muestreo de los compartimientos las concentraciones de glucosa fueron mayores, de manera significativa, que en la sangre materna. Todos los casos analizados fueron embarazos patológicos complicados con toxemia, isoimmunización y diabetes; todos comparados con embarazos normales.

En 1919 Uyeno (19) demuestra por primera vez la presencia de ácido úrico en líquido amniótico humano, sin embargo hasta hace dos décadas se señaló que el ácido úrico comenzaba a elevarse a partir de los primeros meses de la

gestación, incrementándose de manera progresiva hasta el final del embarazo. En el trabajo de Karchmer se observa que las concentraciones de ácido úrico, expresadas en miligramos por decilitro, fueron mayores siempre en el líquido amniótico en comparación con las encontradas en la sangre fetal y materna, así mismo, mayores en los embarazos complicados con toxemia, diabetes o isoimmunización.

Urea.

A partir de los nóbiles estudios de Prochownik en 1877 (19), que demostró por primera vez la existencia de cantidades variables de urea en el líquido amniótico humano. Actualmente se sabe que la concentración de urea en el líquido amniótico comparada con la sangre materna y fetal es igual hasta el quinto mes de la gestación, pero a partir de este momento hasta el final del embarazo esta concentración es mayor. (44) Desde hace tres décadas se ha sostenido que la urea tiende a elevarse en el líquido amniótico en casos de hipoxia fetal, por esta razón se consideraría la urea como un marcador del catabolismo de la proteínas y como indicador del bienestar fetal. Karchmer analizó las concentraciones de urea en los embarazos patológicos y normales, donde la concentración media en los embarazos normales en los tres compartimientos fué: sangre materna 15.6, suero fetal 14.6, y líquido amniótico 10.1mgs por decilitro; en los embarazos complicados con toxemia los valores fueron 26.8, 23.7 y 14.3 mgs por decilitro,

respectivamente; para diabetes de 26.0, 25.3 y 4 mgs por decilitro, respectivamente; los embarazos que cursaron con malformaciones fetales fueron los que tuvieron menor variación en las concentraciones en los tres compartimientos con los siguientes valores; 18.7, 14.8 y 8.1. Tal vez reflejando la teoría de que la urea es un marcador de hipoxia fetal y demostrando así que los compartimientos en los embarazos complicados con malformaciones fetales éste no está sometido a hipoxia fetal.

Calcio.

Los primeros estudios que aparecen sobre este elemento en el líquido amniótico humano fueron realizados por Uyeno en 1918 y Pucher en 1923 (19), fué el primero en citar sus concentraciones siendo entre 0.6 microgramos y 0.1 miligramos. Hace dos décadas se identificó que sus concentraciones tienen una marcada disminución a medida que el embarazo progresa, 8.8 miliequivalentes por litro al principio de la gestación y 6.77 miliequivalentes por litro en las semanas 38 a 42. Se piensa que la disminución está dada por un aumento en la utilización del calcio con el crecimiento fetal o con el aumento en la captación de calcio por el músculo uterino para el inicio del trabajo de parto. Karchmer encuentra que las concentraciones promedio del calcio en embarazos normales fueron: 9.5 en el suero materno, 9.7 en suero fetal y 5.3 en líquido amniótico, miligramos por decilitro; en embarazos con toxemia las

medias fueron: 8.9, 9.3 y 6.8 respectivamente, que expresó un valor altamente significativo para este metabolito, sustentando la teoría de la movilización de calcio hacia el compartimiento materno en casos de toxemia; en embarazos complicados con diabetes los valores fueron: 8.9 , 9.6 y 6.2 respectivamente.

Fósforo.

Merrit y Bauer en 1927, realizaron los primeros estudios referentes al fósforo inorgánico (45), estableciendo que las concentraciones variaban entre 0.94 a 1.2 miligramos por ciento. Karchmer (19) hace notar que el fósforo tiene concentraciones promedio, en embarazos normales, expresadas en miligramos por decilitro, de 3.7 en suero materno, 5.0 en suero fetal y 2.7 en líquido amniótico. Observó que las concentraciones de fósforo en embarazos complicados con toxemia y diabetes fueron siempre mayores , en los tres compartimientos, de manera altamente significativa.

Bilirrubina directa e indirecta.

Desde los estudios iniciales de Bevis en 1952 (46) en que demostró por primera vez la relación entre la presencia de bilirrubina en líquido amniótico y la enfermedad hemolítica, diferentes investigadores han establecido hasta la fecha que la presencia de este metabolito intermedio de

las porfirinas, aparece en el líquido amniótico desde la semana 12 de la gestación, alcanzando su máxima concentración a la semana 30. Sin embargo, los estudios más recientes, utilizando análisis espectrofotométricos, indican que estos pigmentos disminuyen a medida que progresa el embarazo y a la semana 36 solo existirán trazas en el líquido amniótico. El origen de estos pigmentos, por su característica no conjugada, se inclina más a que su origen sea fetal. Las vías de acceso de la bilirrubina al líquido amniótico son variadas, desde la velocidad de degradación de la hemoglobina fetal a través de la permeabilidad capilar, a la difusión a través de la mucosa del tracto respiratorio y digestivo del feto hacia el espacio amniótico, mientras que en la eritroblastosis, ésta provendría de la hemólisis fetal.

De esta manera, Karchmer demuestra que las concentraciones de bilirrubina directa en embarazos normales tiene un promedio de 0.3 miligramos por decilitro en suero materno, 0.5 miligramos por decilitro en suero fetal y 0.1 miligramos por decilitro en líquido amniótico; la bilirrubina indirecta en embarazos normales tiene promedios de 0.3, 1.0 y 0.2 miligramos por decilitro respectivamente. Las concentraciones promedio de bilirrubina directa no mostraron diferencias significativas en embarazos complicados con toxemia severa, diabetes, eritroblastosis y malformaciones fetales, mientras que las concentraciones de bilirrubina tuvieron variaciones significativas, en los

embarazos con toxemia la media fué de 0.1 en sangre materna, 0.64 en sangre fetal y 0.4 en líquido amniótico, en los embarazos complicados con diabetes los promedios fueron de 0.64 en sangre fetal y 0.09 en líquido amniótico, en los que presentaron isoinmunización los promedios en sangre materna fueron de 0.06 y 0.12 en líquido amniótico, en los casos de malformaciones fetales fueron de 0.2 en sangre materna , 0.5 sangre fetal y 0.04 en líquido amniótico, expresados en miligramos por decilitro.

MATERIAL Y METODO.

Se estudiaron líquido amniótico y sangre materna de 10 mujeres en el tercer trimestre de la gestación. En todos los casos se incluyeron mujeres normales entre 25 y 35 años de edad, sin antecedente de enfermedades sistémicas , historia de pérdida fetal previa, embarazo anterior con retarde en el crecimiento intrauterino o malformación congénita. Se descartó la presencia de desnutrición, psicopatía (depresión, ansiedad severa), tabaquismo, alcoholismo o alguna otra toxicomanía.

Los líquidos amnióticos fueron obtenidos por punción directa antes del inicio del trabajo de parto . El criterio de normalidad fué asignado después del nacimiento cuando se corroboró el estado de salud del recién nacido y se verificó su evolución

en un periodo neonatal temprano.

La presencia de infección intraamniótica se descartó clínicamente y por cultivos, que incluyeron siembras para gérmenes aeróbicos y anaeróbicos, organismos del género mycoplasma y Chlamydia trachomatis.

Los sueros fueron obtenidos de las muestras de sangre por centrifugación a 3000 rpm por 20 minutos a temperatura ambiente y guardados en congelación a -70°C . El líquido amniótico obtenido por punción se guardó en congelación hasta su análisis.

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

El método de cromatografía líquida para separación de aminoácidos se validó a partir de corridas sucesivas de estándares de concentración conocida (Merck). Para esto se tomaron alícuotas de 100 μL del estándar conteniendo aminoácidos con las siguientes concentraciones:

alanina

valina

leucina

isoleucina

glutamato

arginina

La muestra se colocó por inyección directa manual en una columna C-18 para intercambio iónico, después de haber

sido derivada por medio de ortoftaldehído (OPA) durante 15 minutos a 40°C. La elución se llevó a cabo utilizando una mezcla de metanol:agua en concentraciones decrecientes de metanol. El procedimiento se realizó con ayuda de cromatógrafo LKB modelo 2150.

Utilizando un horno para la columna de separación con la finalidad de mantener la temperatura en 40°C.

La lectura de las concentraciones de los diferentes aminoácidos se hizo en un analizador de luz ultravioleta con arreglo de diodos y la interpretación/graficación se ejecutó por medio de un programa computarizado para PC mediante el cálculo de área bajo la curva.

RESULTADOS.

Se estandarizó una curva de elución de aminoácidos en el sistema de cromatografía líquida de alta resolución, que incluyó a los siguientes compuestos: Histidina (His), Glicina (Gly), Treonina (Thr), Arginina (Arg), Alanina (Ala), Triptofano (Trp), Metionina (Met), Valina (Val), Fenilalanina (Phe), Isoleucina (Ile), Leucina (Leu) y Lisina (Lys). El patrón de elución típico de estos aminoácidos se muestra en la figura 1. De acuerdo al patrón de retención específico para cada uno de los aminoácidos mencionados, se calculó la posición de cada uno de ellos en una muestra de líquido amniótico corrida en condiciones equivalentes y se calculó su concentración relativa en forma no cuantitativa. Se seleccionaron éstos aminoácidos como representativos de todos los existentes y se incluyeron tanto aminoácidos esenciales como no esenciales. En la figura 2 se muestra el patrón de elución de los aminoácidos prederivados con OPA contenidos en el líquido amniótico. Se muestra sólo la elución de las primeras 40 fracciones ya que el método se calibró solamente para ésta sección. En ésta figura se muestra la abundancia relativa de arginina, glicina y histidina, que se muestran como los aminoácidos más abundantes de los que se identificaron. Por otro lado, el patrón refleja concentraciones menores para los aminoácidos treonina, alanina y triptofano.

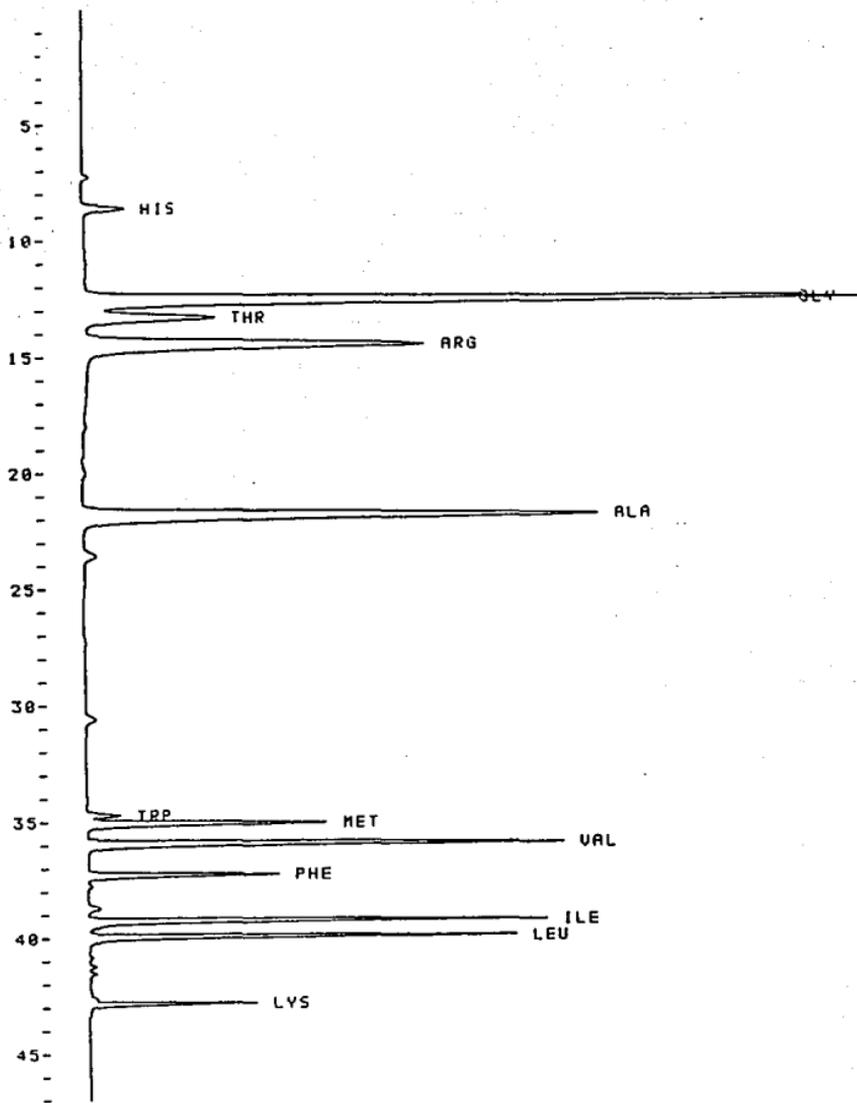


FIGURA 1.

CROMATOGRAFIA DE LIQUIDO AMNIOTICO

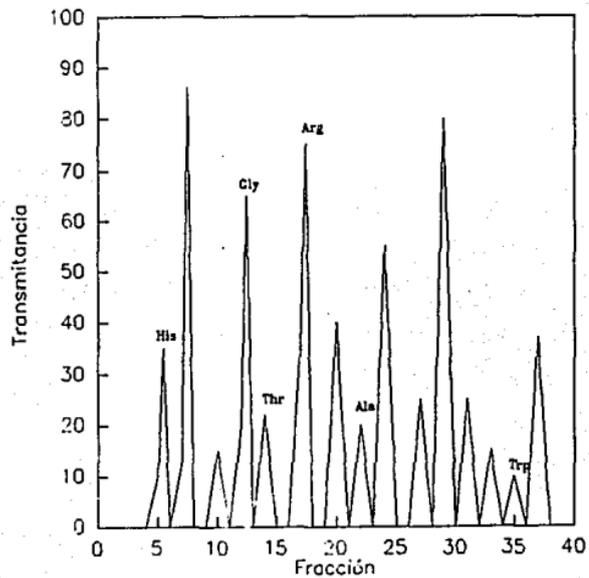


FIGURA 2.

Hasta el momento en la investigación del perfil bioquímico en el líquido amniótico sólo hemos logrado realizar la estandarización del patrón cromatográfico de los aminoácidos contenidos en el líquido amniótico en mujeres con embarazos sin complicaciones. Sin embargo, se esta realizando la metodología para el análisis de los diferentes componentes bioquímicos en el líquido amniótico para completar la primera fase de esta investigación . Para que a su término se pueda establecer el análisis de patrones metabólicos en los líquidos amnióticos de mujeres con embarazos complicados. Y de esta forma poder establecer correlaciones clínico metabólicas que puedan ser representativas de estados patológicos, además de que esta metodología debiera ser capaz de interpretar patrones alterados que demuestren tener cierta sensibilidad clínica y que sean aptos de funcionar como marcadores de enfermedades que comprometan la vida del feto.

CONCLUSIONES:

De esta manera, con el planteamiento de realizar una estandarización del perfil metabólico en el líquido amniótico, se pretende dar inicio a una línea de investigación muy prometedora.

Con la estandarización del metabolismo intermediario, da inicio el primer paso de la confección del estándar bioquímico en el líquido amniótico de pacientes sanas. Donde encontramos parámetros para definir el criterio de normalidad. De tal manera que cuando comparemos nuestro estándar en mujeres embarazadas con complicaciones maternas o fetales seamos capaces de establecer la diferencia entre los patrones del estándar bioquímico en condiciones normales. Dentro del contexto de este trabajo el análisis de aminoácidos se pretende identificar los índices bioquímicos de bienestar fetal. Así pues, el índice bioquímico de salud fetal demuestra ser un método idóneo para la valoración del bienestar fetal, pues evalúa el status metabólico; deberá ser capaz de distinguir la respuesta fisiológica a diferentes agresiones, así como permitir establecer una correlación clínico-metabólica entre patrones basales y alterados, es de bajo costo, mínimo riesgo y accesible a laboratorios donde se realiza rutina clínica.

El objetivo final implica el uso de marcadores metabólicos para la vigilancia del embarazo en mujeres con factores de riesgo perinatal.

BIBLIOGRAFIA:

- 1 Karchmer K:S , López G:R:, Pérez S.J., Shor P.V., Zapata R.H. Anuario Estadístico. Instituto Nacional de Perinatología. 1990
- 2 Hobel C.S., Youkeles I., Forsythe A.: Prenatal and intrapartum high risk screening. II Risk factors reassessed. Am J Obstet Ginecol 135: 1051, 1979
- 3 Sokol R.J., Rosen M.G., Stojkov J., Chik J: Clinical application of high-risk scoring on an obstetric service. Am J Obstet Ginecol 128:652, 1979
- 4 McCaul J.F., Morrison J.C., Valoración fetal prenatal. Clinicas Ginecología y Obstetricia. Vol I editado Morrison J.C. Interamericana. 1-15,1990
- 5 Simpson G.F., Golbus M.S. : Fetal therapy . Hum Prenat Diagn 18:325, 1985
- 6 Hon E.H.,Quilligan E.J.: The classification of fetal heart rate. Conn Med 31:779 , 1967
- 7 Llanos A.J., Green J.R., Creasy R.K., Rudolph A.M.:Increased heart rate response in parasymphatetic an beta-adrenergic blokade in growth retarded fetal lambs. Am J Obstet Ginecol 136:808,1980
- 8 Evertson L.R., Gauthier R.J., Collea J.U.: Fetal demise following negative contraction test . Obstet Gynecol 51: 671, 1978
- 9 Ott W.J.:Antepartum biophysical evaluation of the fetus. Perinatal Neonatol 12:11,1978
- 10 Walker D., Grinwade I., Wood C.: Intrauterine noise : A component of fetal enviroment. Am J Obstet Ginecol 109:91, 1971
- 11 Scibetta J.J., Rosen M.G., Hochburg C.I., Chik L.: Human fetal brain response to sound during labor. Am J Obstet Ginecol 109:82 , 1971
- 12 Manning FA, Basket T.F., Morrison I., Lange I.R.: Fetal biophysical profile scoring. A prospective study in 1184 high-risk patients. Am J Obstet Ginecol.
- 13 Long W.M., Ponds G.M., Sprung C.L.: Metabolic and hormonal responses to injury and sepsis in the critically ill . Endocrine aspects of acute illness. Geelhed G.W., Chernow W.B: Churchill Livingstone pags. 1-26. 1985
- 14 Aun F., Birolini D.: Metabolic Alterations in shock. Endo-

crine Aspects of acute illness. Ed. Geelhoed G.W., Chernow B., Churchill Livingstone 26-40. 1985

15 Siegel J.H., Cerra F.B., Moody E., Dhetye M., Coleman B., Shubert M., Keane J.S.: The effect of survival of critically ill and injured patients of an ICU teaching service organized about of a computer-base Physiology System. The Journal of Trauma. 20:558-579, 1980

16 Simpson G.F., Golbus M.S. Fetal therapy. Hum Prenat Diagn. 18:325, 1985

17 Hauguel S., Desmaizieres B., Challier J.C.: Glucose uptake utilization and transfer by the human placenta as functions of maternal glucose concentration. Pediatr Res 20:269-263, 1986

18 Plentl et al.: Formation and circulation of amniotic fluid. Clin Obstet Gynecol 427, 1966

19 Estudio bioquímico del líquido amniótico en el embarazo normal y patológico, correlación con sangre materna y fetal. Instituto Mexicano del Seguro Social, Hospital de Ginecología No. 1. Samuel Karchmer K. 1971

20 Döderlein A.: Tratado de Obstetricia. Tomo 1 Ed. Labor SA, Barcelona 1923

21 Uranga I.F., Gazcón A.: Líquido amniótico. Primera parte: aspecto fisicoquímico. Obstet y Gynec Lat Am. 8:129, 1950

22 Uranga I.F., Gazcón A.: Líquido amniótico. Segunda parte: Contribución a su estudio bioquímico. Obstet y Gynec Lat Am. 8:237, 1950

23 Shrewsbury J.F.D.: Chemistry of the liquor amnii. Lancet 1:415, 1933

24 Abramovich D.R., Garden A., Landial J., Page K.R.: Fetal swallowing and voiding in relation to hydramnios. Obstet Gynecol. 54:15, 1979

25 Bain A.D., Scott J.R.: Renal agenesis and severe urinary tract dysplasia. A review of 50 cases with particular reference to the associated anomalies. Br Med J. 1:841, 1960

26 Goodlin R.C., Anderson J.C., Gallagher T.F.: Relationship between amniotic fluid volume and maternal plasma volume expansion. Am J Obstet Gynecol. 146:505, 1983

27 Green G.H.: Foetal renal hypoplasia and the origin of amniotic fluid. J Obstet and Gynec Brit Comm. 62:592, 1955

- 28 Wright H.P., Clifton J.S.: Ion transfer across the foetal membranes. *J Obstet and Gynec Brit Comm.* 69:293, 1962
- 29 Berhman R.E., Perer J.T., Lannoy C.W.: Placental growth and the formation of amniotic fluid. *Nature (London)* 214:678, 1967
- 30 Cantarow A., Stuckeret H., Davis R.C.: Chemical composition of amniotic fluid. *Surg Gynec Obstet.* 57:63, 1933
- 31 Huber R. V., Hehne D.: On the origin of the amniotic fluid. (Zur Herkunft des Fruchwassers). *Gynecologia Basel.* 155:160-174, 1963
- 32 Danforth D.N., Hull R.W.: The microscopic anatomy of the fetal membranes with particular reference to the detailed structure of the amnion. *Am J Obstet Gynec.* 75:536, 1958
- 33 Elliott P.M., Inman W.H.W.: Volume of liquor amnii in normal and abnormal pregnancy. *Lancet.* 2:836, 1961
- 34 Queenan J.T., Thompson W., Whitfield C.R., Shah S.I.: Amniotic fluid volumes in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 114:34, 1972
- 35 Gitlin D., Dumate J., Morales C., Noriega L., Arevalo N.: The turnover of amniotic fluid protein in the human conceptus. *Am J Obstet Gynecol.* 113:632, 1972
- 36 Kurjak A., Kirkinen P., Latin V., Ivanovic D.: Ultrasonic assesment of fetal kidney function in normal and complicated pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 41:266, 1981
- 37 Van Otterlo L.C., Wladimiroff J.W., Wallenburg H.C.S.: Relationship between fetal urine production and amniotic fluid volume in normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes. *Br J Obstet Gynaecol.* 89:205, 1977
- 38 Pritchard J.A.: Deglutition by normal and anencephalic fetuses. *Obstet Gynecol.* 25:289, 1965
- 39 Healy D.L., Herington A.C., O'Herlihy C.: Chronic polyhydramnios is a syndrom with a lactogen receptor defect in the chorion laeve. *Br J Obstet Gynaecol.* 92:461, 1985
- 40 Carmichael L., Campbell K., Patrik J.: Fetal breathing, gross fetal body movements, and maternal and fetal heart rates before spontaneous labor at term. *Am J Obstet Gynecol.* 148:675, 1984
- 41 Schrufer J.J., Seeds A.E., Behrman R.E., et al.: Changes in

amniotic fluid volume and total solute concentration in the rhesus monkey following the placement with distilled water. Am J Obstet Gynecol. 112:807, 1972

42 Lingwood B.E., Wintour E.M.: Amniotic fluid volume and in vivo permeability of ovine fetal membranes. Obstet Gynecol. 64:368, 1984

43 Brace R.A.: Amniotic fluid volume and its relationship to fetal fluid balance: Review of experimental data. Semin Perinatol. 10:103, 1986

44 Strand A.: The function of the placenta and placenta insufficiency with special reference to the development of prolonged fetal distress. Acta Obst et Gynec. 45 suppl 1:129, 1966

45 Merrit H.H., Bauer W.: The equilibrium between cerebrospinal fluid and blood plasma. J Biol Chem. 90:215, 1931

46 Bevis D.C.A.: The composition of liquor amnii in haemolytic disease of the newborn. J Obstet and Gynaec Brit Comm. 60:244, 1953

47 Soltesz G., Harris D., MacKenzie I.Z., Aynsley-Green A.: The metabolic and endocrine milieu of the human fetus and mother at 18-21 weeks of gestation. I. Plasma amino acid concentrations. Pediatr Res. 19:91-93

48 Van Leusden H, Ville C.A. The novo synthesis of sterols and steroids by acetate by preparations of human placenta. Steroids 6:31-45 1965.