

***ESTUDIO DEL LÍQUIDO AMNIÓTICO EN EL
LABORATORIO CLÍNICO***

Edelby Escobar Carmona

Profesor Asistente Bioquímica Clínica

Hospital General Universitario Provincial

“Camilo Cienfuegos Gorriarán”

Sancti-Spíritus, Cuba

edelby@hpss.ssp.sld.cu

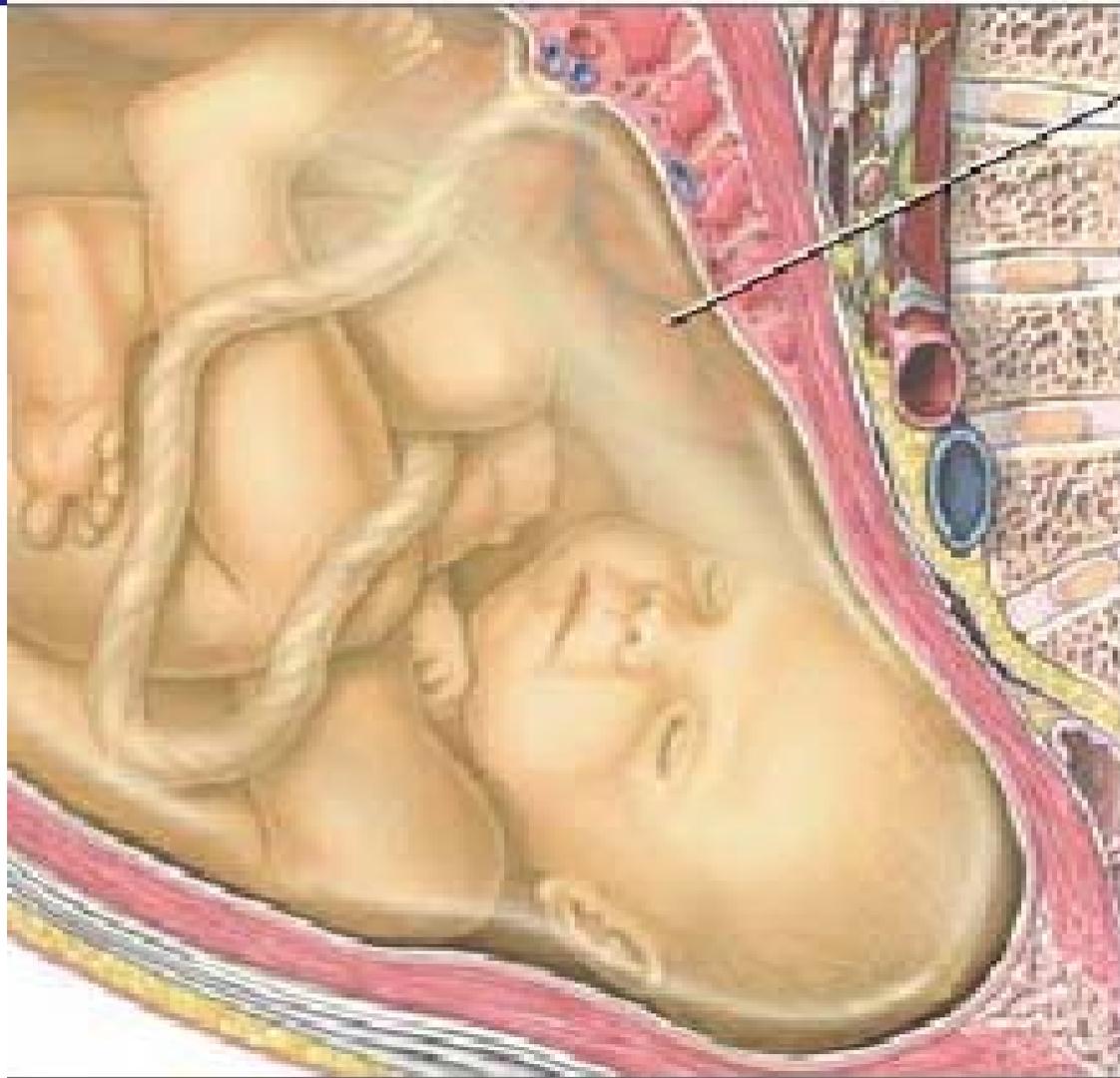
Objetivos

- 1. Identificar la importancia del líquido amniótico para el bienestar fetal.**
- 2. Mencionar las patologías para la realización de la amniocentesis.**
- 3. Explicar los procedimientos técnicos en el estudio del líquido amniótico.**
- 4. Interpretar los resultados de laboratorio.**

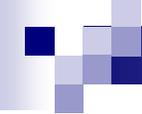
Introducción

El estudio del líquido amniótico por el laboratorio clínico reviste gran importancia en la toma de decisiones por el personal médico dado que se trata de garantizar el bienestar materno-fetal y proporcionar la tranquilidad que toda familia espera de un embarazo.

El medio de obtención por excelencia del material biológico es la ***amniocentesis.***



El líquido amniótico es el fluido claro y amarillento que rodea y protege al feto en el útero

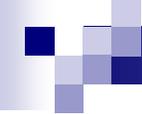


La cavidad amniótica está totalmente formada a las 9 semanas (ya es un feto). El líquido amniótico rodea al feto y tiene las siguientes funciones:

- 1. El feto puede moverse libremente.**
- 2. Protege al feto de agresiones externas.**
- 3. Mantiene una temperatura fetal uniforme.**
- 4. Protección fetal frente a agresiones por contracciones.**
- 5. Ambiente óptimo para el crecimiento y desarrollo.**
- 6. Elemento favorecedor de la dilatación cervical.**

Observaciones:

- **El estrecho contacto entre líquido amniótico-feto es un medio útil para valorar la salud y la madurez fetal.**
- **El líquido amniótico es un medio dinámico cuyo volumen y composición bioquímica están controlados en unos estrechos límites.**



VOLUMEN Y DINÁMICA DEL LÍQUIDO AMNIÓTICO

Desde las 9-20 semanas, la participación materna es fundamental en la formación del líquido amniótico, hay poca participación de la membrana amniótica.

Existe gran similitud entre líquido amniótico-plasma materno, se considera una diálisis materna.

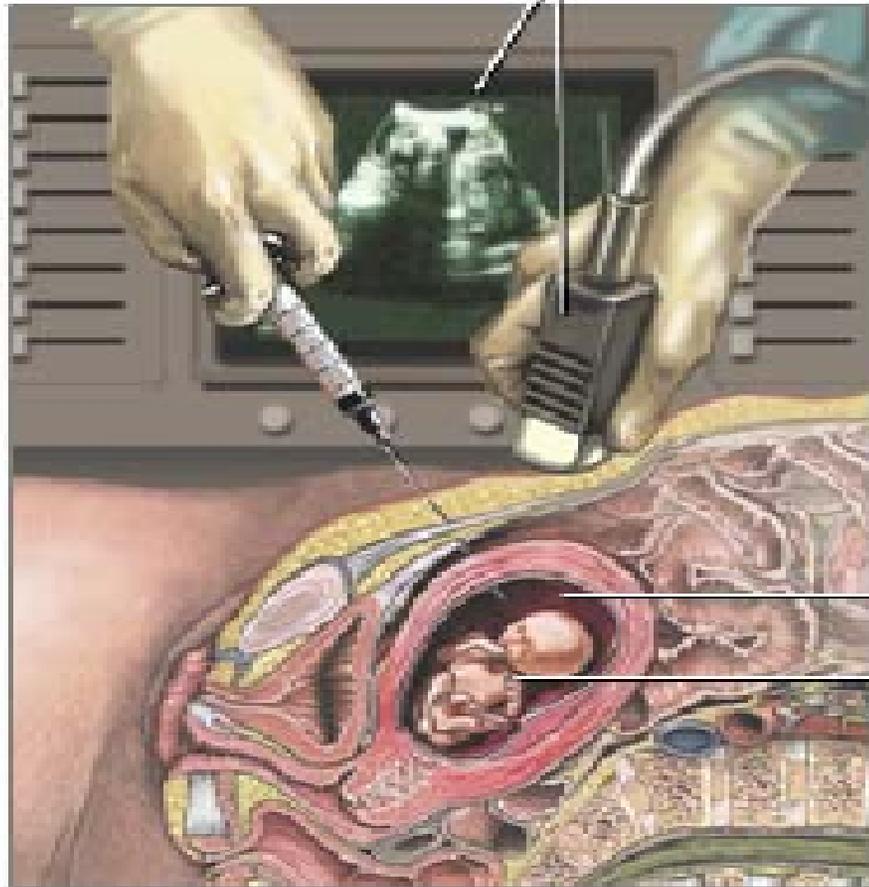
A partir de las 20 semanas, comienza el feto a participar en la formación del líquido amniótico, a través de los riñones y pulmones (el funcionamiento renal fetal comienza a las 14 semanas, pero es poco importante).

Desarrollo pulmonar-fetal

Etapa sacular:

**Desde las 28 semanas hasta el término de la gestación,
10 -15 millones de alvéolos, pico máximo = 35 a 36
semanas**

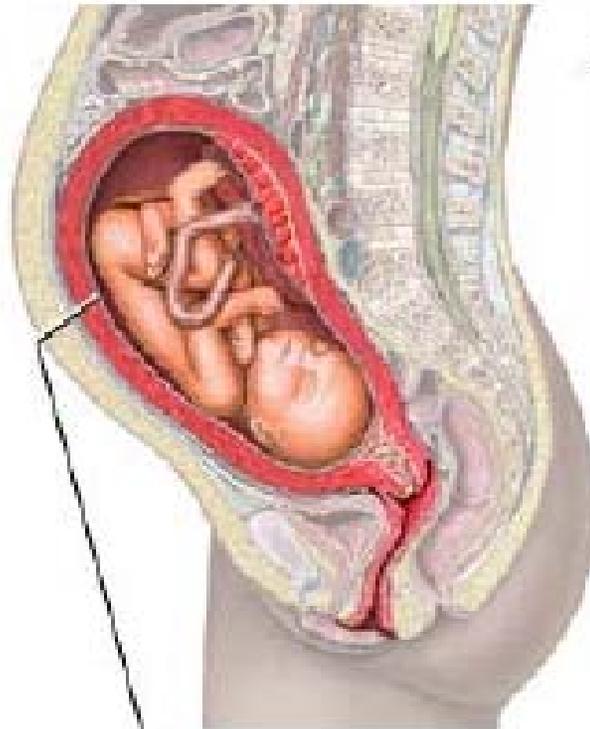
Equipo de ultrasonido



En la amniocentesis, se introduce una aguja hueca en el útero, a través del abdomen de la madre, y se extrae líquido amniótico para analizarlo

Líquido amniótico

Feto



Área de la muestra



Aguja fina

INDICACIONES DE LA AMNIOCENTESIS

- **Sospecha de anomalía cromosómica, alteración metabólica y defectos del tubo neural: 16 semanas.**
- **Isoinmunización: 20-28 semanas.**
- **Sospecha de corioamnionitis: 26-34 semanas**
- **Sospecha de inmadurez fetal o pulmonar: 34-42 semanas.**

AMNIOCENTESIS

- **La amniocentesis transabdominal es el método principalmente utilizado para la obtención de líquido amniótico.**
- **Se realiza entre la 11-16 semanas, con un riesgo de aborto de 0,5-1%.**
- **Consiste en la aspiración de 10-20 mL de líquido amniótico a través del abdomen guiado por ecografía.**
- **Del líquido extraído debe observarse su aspecto antes de centrifugarlo; su apariencia macroscópica y su color pueden ser indicativo de bienestar fetal.**

COLOR DEL LÍQUIDO AMNIÓTICO. VALOR CLÍNICO.

| Color | Situación asociada |
|-----------------------------|---|
| Acrómico a pajizo | Normal (lo que no excluye eritroblastosis) |
| Amarillo | Eritroblastosis |
| Verdoso (meconio) | Hipoxia fetal (excepto durante el embarazo temprano) |
| Oscuro a rojo marrón | MUERTE FETAL |

Procesamiento del líquido amniótico

Se obtiene entre 10-20 mL de líquido amniótico. Se observa el color y aspecto del líquido.

Centrifugación

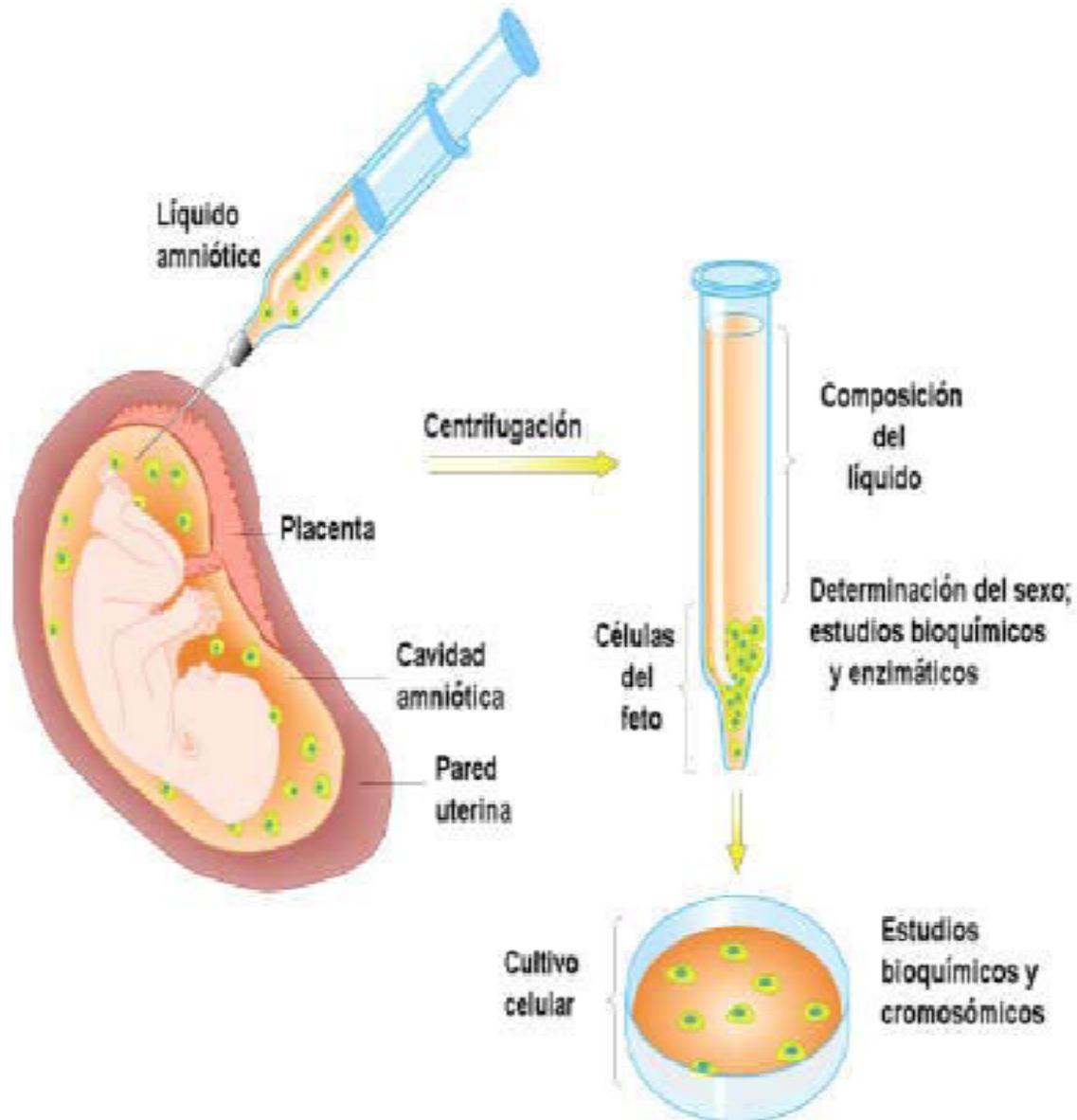
Sobrenadante:

Análisis bioquímico del líquido amniótico (conservar en oscuridad 2-8°C hasta 24 horas para bilirrubina en enfermedad hemolítica).

Precipitado:

Resuspensión en medio de cultivo con suero fetal de carnero que + crecimiento

ESTUDIOS GENÉTICOS



Cultivo de amniocitos

- **Obtención de cariotipo → Estudio de anomalías estructurales (translocaciones, inserciones..) y de número (no disyunciones..)**
- **Estudios citomoleculares → Búsqueda de la alteración/es genética concreta (heredada o de novo). Uso de sondas de genes (FISH)**

Análisis bioquímicos

SCREENING PRENATAL DEFECTOS DEL TUBO NEURAL (DTN)

- La α -fetoproteína (α -FP) se encuentra más \uparrow en suero materno y líquido amniótico en fetos con DTN abierto.
- Su determinación (habitualmente en suero materno) y valoración del riesgo de DTN de la gestante en base a la desviación en más de 2,5 MoM.
- Actualmente se realiza este screening a todas las embarazadas alrededor de la 16 semanas (antes no se detecta bien) para detectar DTN (anencefalia, espina bífida,meningocele).

Proteínas

- **La concentración de proteínas como albúmina, disminuyen con la edad gestacional. El fibrinógeno está ausente en el líquido amniótico.**
- **Tienen una concentración 20-25 veces menor que en plasma materno.**
- **La mayor parte procede del suero materno, pasando al líquido amniótico por pinocitosis.**
- **Electroforéticamente, son semejantes a las maternas.**

Proteínas

- **La α -feto proteína originada en el hígado fetal, aumenta su concentración hasta las 14 semanas, luego disminuye.**
- **Las principales proteínas son ceruloplasmina, transferrina, IgG, IgA, IgM. IgG e IgA son de origen materno, y la última por infecciones intraútero (IgM rubéola o toxoplasma!!!!)**

Compuestos nitrogenados no proteicos

- **Las concentraciones de urea, ácido úrico y creatinina aumentan con la gestación, especialmente por el aporte urinario fetal.**
- **La medida de creatinina y la de ácido úrico tienen valor predictivo para la madurez fetal.**

Aminoácidos

- **Su concentración en líquido amniótico es un 50-75% menor que en plasma materno; disminuyen con la edad gestacional.**
- **Algunos de ellos, permitirían detectar tempranamente, algunas anomalías del desarrollo fetal.**

Lípidos

Su concentración en el líquido amniótico varía con la edad gestacional:

- **Fosfatidil colina (lecitina):** aumenta gradualmente hasta las 34-35 semanas, después de la cual se incrementa abruptamente (embarazo a término representa el 70-75% de los fosfolípidos del líquido amniótico).
- **Fosfatidil inositol:** corren paralelos a los de la lecitina hasta las 34-35 semanas, momento en el que representan el 20-25% de los fosfolípidos. Luego descienden y al llegar a término, representan el 15% de los fosfolípidos.

Lípidos

- **Fosfatidil etanolamina, fosfatidil serina y esfingomielina:** presentes en concentraciones cercanas en los comienzos del tercer trimestre. Después de las 30-32 semanas se mantienen y luego caen, en tanto que la lecitina continua aumentando.
- **Fosfatidil glicerol:** No aparece en el líquido amniótico hasta las 36 semanas. A partir de este momento, su concentración se eleva rápidamente y ocupa el segundo lugar de los fosfolípidos en el líquido amniótico después de la lecitina.

Enzimas

Se han medido muchas en líquido amniótico , aunque su determinación es de un valor clínico limitado.

LDH:

- **Cambia poco durante la gestación, aunque se observan valores muy aumentados asociados a muerte fetal.**

ACETILCOLINESTERASA:

- **Es útil en el diagnóstico de los DTN; con electroforesis con gel separador se distinguen las isoenzimas de otras; el líquido amniótico de fetos normales contiene 1 sólo Acetilcolinesterasa con migración lenta; fetos con DTN tienen otra que migra más rápido.**

Enzimas

- **AMILASA:**

Aumenta con la gestación y se ha sugerido como medida de la madurez fetal, ya que aumenta bruscamente después de la 36 semanas.

- **CK:**

Es más alta en suero materno que en líquido amniótico, el doble más o menos. La isoenzima CK-BB es la principal, aumenta en casos de teratoma fetal y anencefalia!!!

Enzimas

- **GGT Y 5'-NUCLEOTIDASA:**

Están muy elevadas entre las 13-15 semanas, luego caen rápidamente entre 25-27 semanas. El resto del tiempo ambas están bajas.

- **FOSFATASA ALCALINA:**

Aumenta con la edad gestacional y de forma patológica en las preeclampsias

Otros metabolitos

BILIRRUBINA:

La *eritroblastosis fetalis* es una enfermedad hemolítica, consecuencia de una incompatibilidad sanguínea entre la madre y el feto (habitualmente es debido a madre Rh- tiene feto Rh+, IgG madre pasan barrera placentaria y destruyen hematíes fetales causando hemólisis con un aumento de bilirrubina en el líquido amniótico: hay relación entre cantidad de bilirrubina y severidad de la enfermedad.

A450 < 0,02; <0,025mg/dL

Enfermedad hemolítica

Gráfico de Liley:

Permite medir el grado de afección fetal. El resultado obtenido de la DO es ubicado en el gráfico de Liley de acuerdo a la edad gestacional específica de cada caso. Esta información servirá para hacer un pronóstico de cada caso e, incluso, orientará sobre la conducta a seguir en esa paciente en particular.

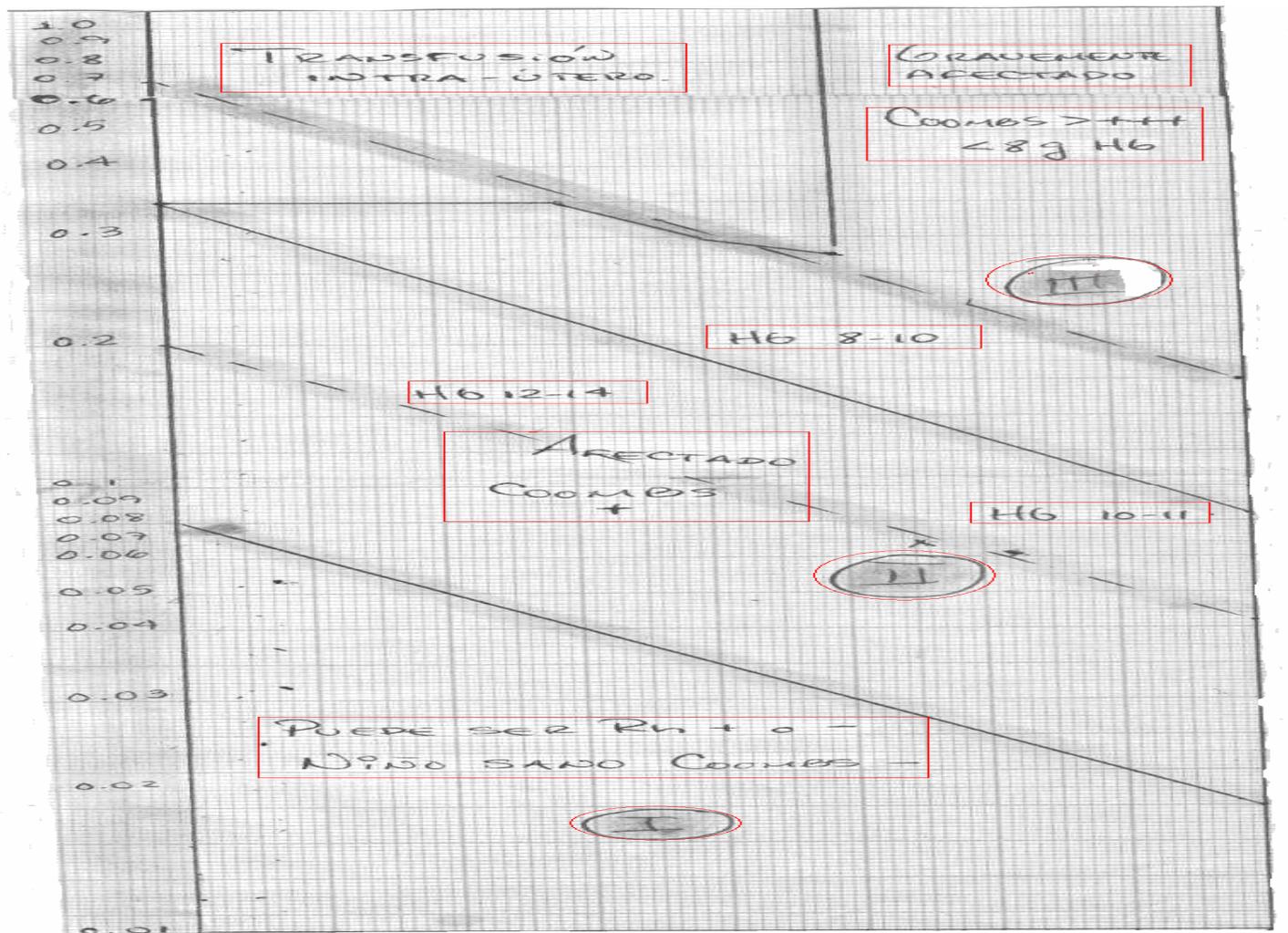
Interpretación de la gráfica de Liley

Zona No.1: Puede ser Rh + ó - . Niño sano, Coombs -.

Zona No.2: Niño afectado, Coombs + (Hb 100-110 g/L y Hb 120 140 g/L).

**Zona No.3: Niño afectado, Coombs +++ (Hb <80 g/L).
Puede requerir transfusión intra-útero.**

Curva pronóstico de Liley



26 28 30 32 34 36 38 40

Semanas de gestación

Madurez fetal pulmonar

- **Síndrome del Distrés Respiratorio (SDR) también llamado enfermedad de la membrana hialina.**
- **Es un problema relativamente frecuente en niños nacidos prematuros, estos tienen una incidencia de SDR del 10-15% (<37sem ó <2500g); y se calcula que globalmente afecta al 1% de todos los nacidos vivos.**
- **Estos niños requieren oxígeno extra y ventilación mecánica.**
- **Existe una deficiencia de surfactante pulmonar, que recubre el epitelio alveolar y permite que los pulmones cambien de volumen por reducción de la tensión superficial de la pared alveolar en la expiración evita el colapso alveolar.**

Madurez fetal pulmonar

Las situaciones habituales por las que se solicita el test de madurez fetal son:

- **Para realizar cesárea cuando la edad gestacional es incierta.**
- **Para anticipar nacimiento en caso de embarazos de alto riesgo (enfermedad hemolítica, Diabetes mellitus, preeclampsia, parto prematuro)**

Tipos de métodos

- **Por fluorescencia polarizada (TDx)→Técnica rápida; cuanto mayor es la concentración de agentes tensoactivos (TA), menor es la polarización.**
- **Por cromatografía capa fina o delgada (Test de Gluck o razón lecitina/esfingomielina→L/S ratio y fosfatidil glicerol→PG): Técnica actualmente en desuso, se prefiere la TDx.**
- Fosfatidil glicerol (PG).
- Test de Clements, Shake test o prueba de la burbuja.
- **Por turbidez generada por los cuerpos lamelares o DO 650 →**
A650>0,15 (madurez fetal)→ Interferencias!!!

Pruebas de madurez pulmonar

Test de Gluck ó relación lecitina/esfingomielina (L/S):

Primer exámen y sigue siendo el más utilizado.

- **Menor de 24 Semanas = 0,5**
- **32 Semanas = mayor de 1**
- **35 Semanas = 2 (madurez pulmonar fetal)**

Su valor predictivo no es muy elevado.

Pruebas de madurez pulmonar

FOSFATIDILGLICEROL (PG):

- **Marca el inicio de la maduración.**
- **No se altera con la presencia de meconio.**
- Mayor de 1% = Madurez pulmonar fetal.

Pruebas de madurez pulmonar

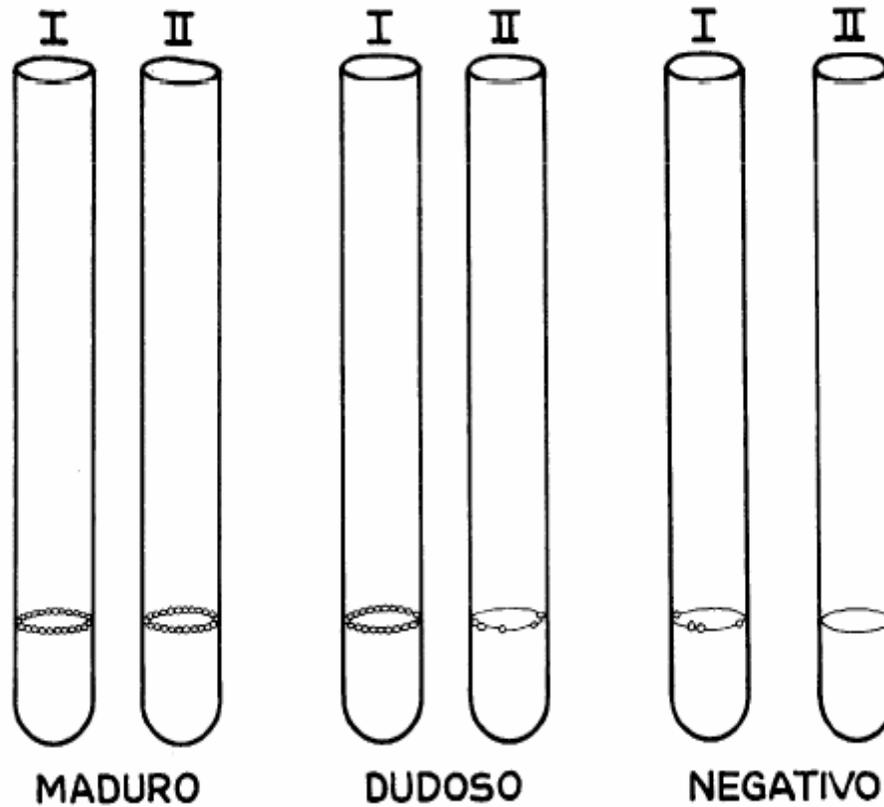
Test de Clements (Shake test, prueba de la burbuja) 1972

- **Se determina en forma rápida en menos de 30 minutos.**
- **Se basa en la propiedad biofísica de que el surfactante pulmonar genera una capa de burbujas estable en la interfase aire-líquido cuando se agita en presencia de etanol.**
- **Si el anillo permanece más de 15 minutos = Maduración pulmonar fetal.**

Tiene muchos falsos negativos.

Interpretación del Test de Clements

PRUEBA DE LA AGITACION



Pruebas de madurez pulmonar

Densidad óptica a 650 nm (DO 650):

$A_{650} > 0,15$ (madurez fetal)

!!!Interferencias!!!

Pruebas de madurez pulmonar

Otros métodos:

- **Medición directa de : Fosfatidil colina disaturada.**
- **Mediciones de : SP-A, SP-B.**

No tienen uso rutinario en la práctica, por que no han mostrado mejor capacidad predictora de maduración pulmonar fetal.

Pruebas de madurez fetal

Test del sulfato de Azul de Nilo 1%:

La agregación gota a gota de sulfato de Azul de Nilo 1% permite teñir el material lipídico de las células y los lípidos libres de un color naranja.

≥ 20 células naranjas: feto maduro

Pruebas de madurez fetal

Determinación de creatinina verdadera:

1.5-2.0 mg/dL (132-176.8 $\mu\text{mol/L}$)

Otras pruebas de interés

Prueba de cristalización ó de arborización:

Test positivo sólo para líquido amniótico (aparecen helechos en la observación microscópica, muy útil para valorar Ruptura Prematura de Membranas)

Conclusiones

- 1. El líquido amniótico resulta de interés vital para el mantenimiento de la vida fetal.**
- 2. Su obtención se realiza a través de una amniocentesis.**
- 3. Su indicación será de acuerdo a la patología del paciente.**
- 4. Existen distintas técnicas y métodos para evaluar alteraciones metabólicas, cromosómicas, riesgo de isoimmunización y madurez fetal y pulmonar.**

Bibliografía

1. Estol, P. Diagnóstico de la maduración pulmonar fetal. *Rev Med Uruguay* 1990; 6: 48-57.
2. Educación médica continuada. Ruptura prematura de membranas. Disponible en <http://telesalud.ucaldas.edu.co/rmc/articulos/v8e3a4.htm>
3. Sepúlveda, Waldo H; Araneda C., Heriberto; Brandell T., Liliana; Contreras D., Víctor; Varela M., Jorge. Evaluación de la madurez pulmonar fetal por la densidad óptica del líquido amniótico y prueba de Clements modificada. *Rev. chil. obstet. ginecol*;53(5):261-7, 1988.
4. Jiménez Díaz, S. Líquido amniótico. Disponible en: <http://aebm.org/jornadas/liquidos/Jornada%2012%20OCTUBRE%20AEBM.pdf>
5. PINO, Paola et al. COMPARACION DEL INDICE LECITINA/ ESFINGOMIELINA VERSUS FOSFATIDILGLICEROL EN LA EVALUACION DE LA MADUREZ PULMONAR FETAL. *Rev. chil. obstet. ginecol.* [online]. 2002, vol. 67, no. 6 [citado 2009-05-04], pp. 476-480. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75262002000600008&lng=pt&nrm=iso >. ISSN 0717-7526.
6. López Canales, J R. Pruebas de madurez fetal. Pruebas de madurez fetal. *REV. MEDICA HONDUR. VOL. 52 – 1984.*