

UNIVERSIDAD DE GRANADA

Facultad de Medicina

Cátedra de Pediatría y Puericultura

Prof. J.A. Molina Font



**Determinación de macro, meso
y microproteínas en líquido amniótico.
Relación con la maduración fetal
y el desarrollo del riñón del feto humano.**

Joaquín Pedrero Vera

Granada, septiembre de 1990

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN Medicina

Curso de 19 11 a 19 11

Folio 109

Número 218

Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Josep
Padilla, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente
tema, que libremente había elegido: Delaboración de un caso, sus y juicio
de las al ligante a un cuadro. Reflexión con la ley de
una fidel y el desarrollo de un caso del peto humano?

Terminada la lectura y contestadas las objeciones formuladas por los Jueces del Tribunal, este
le calificó de APTO CON LAUDE

Granada 22 de Septiembre de 19 11

EL PRESIDENTE.
[Signature]

El Secretario del Tribunal.
[Signature]

Fdo: R. Matos Navarrete

Fdo: A. los Heras

EL VOCAL.

EL VOCAL.

EL VOCAL.

[Signature]
Fdo:

[Signature]
Fdo: F. Gonzalez-Sanz

[Signature]
Fdo: José A. Alvarez Cas

FIRMA DEL GRADUANDO.
[Signature]

Don *Juan de Dios Luna del Castillo*, doctor en Ciencias Matemáticas, y profesor colaborador del Departamento de Bioestadística de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

CERTIFICA: que don *Joaquín Pedrero Vera*, licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado bajo mi dirección todo el proceso estadístico e informático de esta Tesis Doctoral: «Determinación de macro, meso y microproteínas en líquido amniótico. Relación con la maduración fetal y el desarrollo del riñón del feto humano.», la cual ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido revisada la presente y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

GRANADA, septiembre de 1990

Don *Juan Antonio Molina Font*, Catedrático de Pedriatría y Puericultura de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada

CERTIFICA: que don *Joaquín Pedrero Vera*, licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado el trabajo de Tesis Doctoral bajo mi dirección, sobre el tema «Determinación de macro, meso y microproteínas en líquido amniótico. Relación con la maduración fetal y el desarrollo del riñón del feto humano.», que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido revisada la presente y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

GRANADA, septiembre de 1990

Don *Alfonso Herruzo Nadal*, Doctor en Medicina y Cirugía y Jefe del Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital «Virgen de las Nieves»

CERTIFICA: que don *Joaquín Pedrero Vera*, licenciado en Medicina y Cirugía, ha realizado el trabajo de Tesis Doctoral bajo mi dirección, sobre el tema «Determinación de macro, meso y microproteínas en líquido amniótico. Relación con la maduración fetal y el desarrollo del riñón del feto humano.», que ha finalizado con todo aprovechamiento, habiendo sido revisada la presente y estando conforme con su presentación para ser juzgada.

GRANADA, septiembre de 1990

AGRADECIMIENTOS

Agradezco encarecidamente a todos mis compañeros de la Unidad de Nefrología Pediátrica por su valiosa colaboración, y especialmente a Antonio Alvarez Ocaña, verdadero artífice y colaborador de las ilustraciones de este trabajo.

Mi agradecimiento profundo al Dr. Manuel Mas Massat por su valiosa colaboración al propocionarme todas las muestras de líquido amniótico, así como a todo el personal sanitario de Diagnóstico Prenatal del Departamento de Obstetricia y Ginecología, que colaboran con él

Agradezco a todo el personal del laboratorio del Hospital «Virgen de las Nieves» por su colaboración y determinaciones analíticas: creatinina, proteínas totales, alfafetoproteína, citología y Delta-450.

Mi más sincero agradecimiento al Dr. Rafael Robles Ares, Jefe del Servicio de Neonatología del Centro Materno-Infantil «Virgen de las Nieves», por sus orientaciones científicas perinatológicas, así como a todo el personal sanitario por los datos correspondientes a los neonatos del estudio.

Finalmente deseo agradecer las múltiples sugerencias que he podido recibir de todos los compañeros del Departamento de Pediatría, encabezados por el Dr. Jesús Moreno Mart — así como a los compañeros: Dra. Mercedes Lascertales Abril del Departamento de Pediatría del Hospital «San Cecilio» y Dr. Carlos Jiménez Alvarez del Servicio de Cirugía Infantil del Centro Maternal.

Abreviaturas y símbolos

ADH: Hormona antiurética

Alb: Albúmina

AFP: Alfa-fetoproteína

A2M: Alfa-2-macroglobulina

A1M: Alfa-1-microglobulina.

B2M: Beta-2-microglobulina

C: Aclaramiento

CITO: Citología.

COR: Correlación.

Cr: Creatinina.

DBP: Diámetro biparietal.

A450: Densidad óptica-450.

EGA: Edad gestacional al realizar la amniocentesis

EGN: Edad gestacional al nacer.

FG: Filtrado glomerular.

IgG: Inmunoglobulina G.

Kdaltons: Kilo-daltons.

LA: Líquido amniótico.

LE o L/S: Cociente amniótico lecitina/esfingomielina.

mcg: microgramo.

mosmol: miliosmoles.

Osm: osmolaridad.

PF: patología fetal.

PMa: patología materna.

PM: peso molecular.

PN: Peso Natal.

PT: Proteínas totales.

rpm: revoluciones por minuto.

Tf: Transferrina.

Indice

1. INTRODUCCION	15
1.1. <i>Líquido amniótico: Origen y circulación</i>	16
1.2. <i>Bases físico-químicas de las membranas corio-amnióticas</i>	20
1.3. <i>Volumen y composición físico-química del líquido amniótico</i>	23
1.3.1. Sustancias inorgánicas	24
1.3.2. Sustancias orgánicas.....	25
1.4. <i>Citología amniótica y madurez fetal</i>	30
1.5. <i>Diagnóstico prenatal de anomalías fetales</i>	32
1.5.1. Ecografía.....	32
1.5.2. Amniocentesis	33
1.6. <i>Proteínas en líquido amniótico</i>	34
1.6.1. Composición de las proteínas del líquido amniótico	34
1.6.2. Origen y circulación de las proteínas del líquido amniótico.....	38
1.6.3. Pesos moleculares de las distintas proteínas: su transporte a través de las membranas biológicas.....	40
1.6.4. Transporte y permeabilidad de las proteínas en el riñón.....	44
1.6.5. Proteínas y polipéptidos: metabolismo renal.....	45
1.6.6. Transporte de proteínas en la placenta.....	46
1.6.7. Proteínas de diversos tamaños moleculares en líquido amniótico: microproteínas, mesoproteínas y macropoteínas.	48
1.7. <i>El riñón fetal: consideraciones anatomo-funcionales</i>	55
1.7.1. Embriología renal	55
1.7.2. Homeostasis fetal. La placenta	58
1.7.3. Fisiología renal fetal: maduración funcional y líquido amniótico.	66
2. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS.....	73
2.1. <i>Hipótesis de trabajo</i>	74
2.2. <i>Objetivos</i>	76
3. MATERIAL Y METODOS.....	77
3.1. <i>Material</i>	78
3.2. <i>Método clínico y de laboratorio</i>	80

3.2.1.	Metodología analítica y parámetros obstétricos-neonatales	81
3.2.2.	Parámetros amnióticos: proteínas y creatinina.....	83
3.2.3.	Métodos de laboratorio de las distintas proteínas amnióticas.....	89
3.3.	<i>Método estadístico</i>	92
4.	RESULTADOS.....	94
4.1.	<i>Datos obtenidos tras análisis del material: parámetros no-protéicos</i>	95
4.1.1.	Edad gestacional en el momento de la amniocentesis	95
4.1.2.	Cociente L/E.....	95
4.1.3.	Densidad óptica 450 x 10 ³	95
4.1.4.	Osmolalidad del L.A.....	95
4.1.5.	Diámetro biparietal fetal.....	95
4.1.6.	Citología del L.A.....	96
4.1.7.	Ph del L.A.....	96
4.1.8.	Peso natal	96
4.1.9.	Edad gestacional al nacimiento.....	96
4.1.10.	Apgar-I-min.	96
4.1.11.	Apgar-5-min.....	97
4.1.12.	Patología fetal materna	97
4.2.	<i>Proteínas amnióticas</i>	98
4.2.1.	Concentraciones protéicas amnióticas: microproteínas, meso- proteínas y macroproteínas.....	98
4.2.2.	Porcentajes de proteínas amnióticas: microproteínas, mesopro- teínas y macroproteínas.....	99
4.2.3.	Cocientes de «excrección» de cada proteína amniótica en rela- ción a la creatinina	99
4.2.4.	Cocientes entre proteínas amnióticas entre sí, seleccionadas por su tamaño.....	100
4.3.	<i>Resultados del análisis estadístico</i>	101
4.3.1.	Estudio de correlación de las proteínas amnióticas con la edad gestacional en el momento de la amniocentesis.....	101
4.3.2.	Correlación entre las concentraciones amnióticas de proteínas y el cociente L/E.....	102
4.3.3.	Correlaciones de las proteínas amnióticas y el Delta-450.....	102

4.3.4.	Relación entre las distintas proteínas amnióticas y el diámetro biparietal fetal.....	103
4.3.5.	Relación entre proteínas amnióticas y citología del L.A.....	104
4.3.6.	Relación entre las concentraciones porcentajes y cocientes de proteína amnióticas y la edad al nacimiento.....	104
4.3.7.	Correlación entre las concentraciones, porcentajes y cocientes protéicos amnióticos y el peso al nacimiento.....	105
4.3.8.	Relación entre proteínas amnióticas y Apgar-1-min.....	105
4.3.9.	Correlación entre proteínas amnióticas y Apgar-5-min.....	105
4.3.10.	Relaciones entre los distintos parámetros de madurez fetal.....	106
4.3.11.	Correlación entre las distintas proteínas en términos «absolutos» o de concentración amniótica.....	107
4.4.	<i>Comparación de medias entre fetos patológicos y no-patológicos.....</i>	109
4.5.	<i>Resultados del estudio de regresión múltiple de cada uno de los parámetros de madurez fetal frente a las proteínas amnióticas.....</i>	110
4.5.1.	Estudio de regresión múltiple para la edad gestacional.....	110
4.5.2.	Resultados de la regresión múltiple para el cociente L/E.....	111
4.5.3.	Resultados de la regresión múltiple para el delta 450.....	112
4.5.4.	Estudios de la regresión múltiple para la citología amniótica.....	112
4.5.5.	Resultados de la regresión múltiple para el diámetro biparietal ecográfico del feto.....	113
4.5.6.	Resultado de la regresión múltiple para el peso al nacer.....	114
4.6.	<i>Tablas y figuras de resultados.....</i>	115
4.6.1.	Tabla I. Descripción de los datos estadísticos más destacables de todas las variables.....	116
4.6.2.	Tabla II. Matriz de coeficientes de correlación entre variables....	125
4.6.3.	Tabla III. Datos estadísticos básicos de los parámetros protéicos amnióticos en los grupos sin patología y con patología fetal-materna.....	133
4.6.4.	Tabla IV. Regresión múltiple para las variables-parámetros habituales de madurez fetal frente a proteínas amnióticas.....	142
4.6.5.	Figuras 33 a 52. Curvas, seleccionadas por su significativa correlación de proteínas amnióticas <i>versus</i> parámetros de maduración fetal.....	150

5. DISCUSION	171
5.1. <i>Valoración de la relación entre Edad gestacional y proteínas amnióticas</i>	172
5.2. <i>Valoración y limitación del diámetro biparietal y las proteínas amnióticas</i> ..	174
5.3. <i>Comentarios sobre el cociente L/E y proteínas amnióticas</i>	174
5.4. <i>Significado y limitación de la relación entre peso natal y proteína amnióticas</i>	175
5.5. <i>Valoración y comentarios sobre el APGAR y las proteínas amnióticas</i>	175
5.6. <i>Análisis y valoración de las interrelaciones de los parámetros de maduración fetal «entre sí» y las proteínas amnióticas «entre sí»</i>	176
5.7. <i>Comentarios acerca de las proteínas amnióticas y su relación con la patología fetal y materna</i>	177
5.8. <i>Comentarios sobre el estudio de «regresión múltiple» de cada parámetro de madurez fetal en relación con las proteínas amnióticas</i>	178
5.9. <i>Discusión acerca de los «cocientes proteicos amnióticos» como indicadores de «selectividad proteica renal»</i>	179
6. CONCLUSIONES.....	180
7. BIBLIOGRAFIA	183

1. Introducción

1.1. LIQUIDO AMNIOTICO: ORIGEN Y CIRCULACION

La cavidad amniótica está llena de líquido, como medio ambiental donde se va a desarrollar el feto. No es un líquido estancado, sino que presenta una dinámica intensa, circula y se renueva con gran rapidez¹.

La formación y origen del líquido amniótico es un problema aún no resuelto. Parece ser que tiene origen diverso. Durante los primeros estadios de vida intrauterina es explicable por la acción de la pared amniótica. Posteriormente, cuando se establecen conexiones con la decidua y sangre materna, parece tener un origen materno.

En el estadio final de la gestación, el feto puede incidir de forma decisiva en la formación del líquido amniótico.

Se pueden considerar, pues, tres compartimentos, que pueden estar involucrados en la formación y origen del líquido amniótico:

- I. Feto
- II. Membrana amniótica.
- III. Organismo materno.

Varias teorías se barajan con frecuencia respecto al origen y circulación del líquido amniótico. Durante muchos siglos se consideró casi exclusivo el papel del feto para la circulación. La teoría más antigua es debida a los hipocráticos, a la cual se adherió posteriormente LEONARDO DA VINCI; según esta teoría la orina fetal es el componente fundamental del líquido amniótico.

Por el contrario, según GALENCY VESALIO más tarde, el líquido amniótico era producto del sudor o de la transpiración cutánea.

Siguiendo a PLENTL y Cols² dividirán en tres compartimentos: materno, fetal y amniótico. Así HUTCHINSON y Cols³ usando trazadores de Na²², Na²⁴, K⁴², D²⁰, THO, llegaron a la conclusión de que se intercambia cada hora 12 mEq. de Na, 0,6 mEq. de K y 26 moles de H₂O (471 ml). Se puede estimar un intercambio de 500 ml/hora y 2-3 horas para la secreción total del H₂O amniótico.

La distribución sería: 25-30% de la concentración total de líquido amniótico, a través del feto; y 70-75% restante a través de membranas ovulares o de superficie fetal de la placenta. Para ilustrar estas afirmaciones vease figura 1 modificada de BONILLA⁴.

Es claro que el paso de líquido amniótico entre madre y feto corre, fundamentalmente, por vía transplacentaria. Es evidente que, ese intercambio, se realiza a través de las membranas ovulares. Sin embargo, el intercambio entre el feto y el líquido amniótico variará durante la gestación de forma que siga varios caminos:

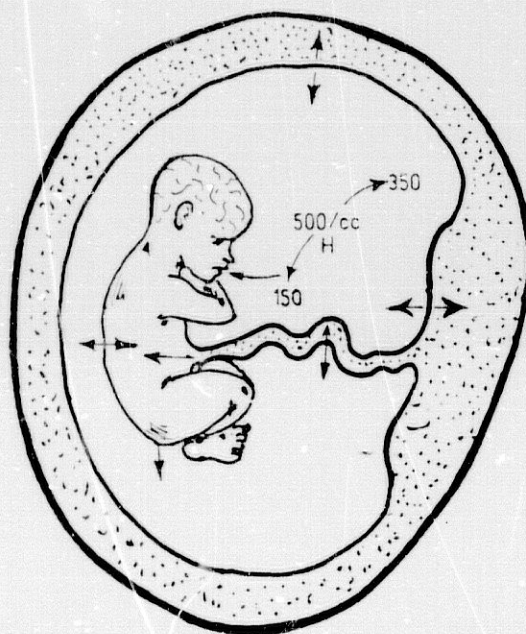


Fig. 1. Intercambio horario de líquido amniótico

- Deglución por el feto.
- Aspiración pulmonar fetal.
- Orina fetal.
- Secreción pulmonar del feto.
- Vía transcutánea y cordón umbilical.

Orina fetal

Este componente es de máximo interés en este estudio, ya que se pretende analizar la maduración renal, indirectamente a través del líquido amniótico del que forma parte importante la orina fetal⁵.

Desde tiempo de HIPOCRATES, se atribuyó un papel primordial a la orina fetal en la formación del líquido amniótico y hay datos a favor de esta hipótesis, fundamentalmente al final de la gestación, que es la etapa de interés de nuestro estudio. Se puede enumerar hechos a favor de dicha hipótesis, como son:

- Aumento de urea en líquido amniótico.
- Aumento de creatinina en líquido amniótico,
- Disminución de la osmolaridad en líquido amniótico.
- Disminución de los electrolitos en líquido amniótico.

Estos indicadores son expresión de la mayor capacidad de reabsorción tubular de Na, a medida que el feto madura en su fisiología renal, así como son expresión de un mayor índice de Filtración Glomerular, como indica el aumento de excreción de sustancias nitrogenadas de deshecho.^{5,6,7,8,9}

CAMPBELL y COLS¹⁰ con técnicas ecográficas han medido la capacidad vesical total, que varía de 22 ml. a las 22 semanas de gestación, llegando a 30 ml. a las 40 semanas de gestación. Así pues estos autores determinan que la cantidad de orina emitida sería próxima a 20 ml/h. coincidente con otros autores como LIND.^{6,7,8,9}

Se observa que, la orina fetal es un componente cuantitativo no despreciable del líquido amniótico, pero lo más importante es su aportación cualitativa considerable, ya que imprime múltiples variaciones la osmolaridad, electrolitos, urea, creatinina, etc. en la composición del líquido amniótico.^{6,7,8,9}

Deglución fetal

El feto deglute líquido amniótico. La mayoría de los autores admiten los datos de PRITCHARD^{11,12} según el cual los fetos ingieren de 5-70 ml/hora por término medio de dicho elemento líquido.

Pulmón fetal

Las secreciones pulmonares no desempeñan un papel importante en la regulación del líquido amniótico, pero sí es evidente que sus componentes lipídicos representan un valor cualitativo en el líquido amniótico, de tal forma que la valoración cociente: lecitina/esfingomielina, es un indicador "clásico" de maduración pulmonar fetal⁴.

Piel fetal

HARRISON y MALPAS¹³ demostraron que al comienzo de la gestación, la cantidad producida de líquido amniótico, era directamente proporcional a la superficie corporal del feto. Mientras más pequeño es aquel la permeabilidad es mayor, medidas éstas por el sodio y el agua que infunde a través de la piel fetal, a consecuencia de un gradiente de concentración, como comprobó PARMELEY¹⁴. A medida que progresa el embarazo el peridermo va transformándose en piel verdadera, y se diferencia en capas y se queratiniza, de tal forma que entre 17 y 25 semanas de gestación, la piel se ha queratinizado completamente y actúa como barrera, disminuyendo la permeabilidad¹⁴. O sea, que la piel pierde su papel activo en el intercambio de líquido amniótico, a partir de la 20 semana de gestación.⁴

Cordón umbilical

El tránsito del líquido amniótico, a través de la pared del cordón umbilical, se hace por difusión simple, pero consta de una gran cantidad de agua 50 ml/h. Desde la gelatina de WHARTON pasa a los vasos umbilicales o es transportado hacia el estrato esponjoso del amnios y se reabsorbe desde ahí por los vasos subcoriales. El mismo fenómeno ocurre en dirección contraria². Vease figura 2⁴ para la comprensión de estas afirmaciones.

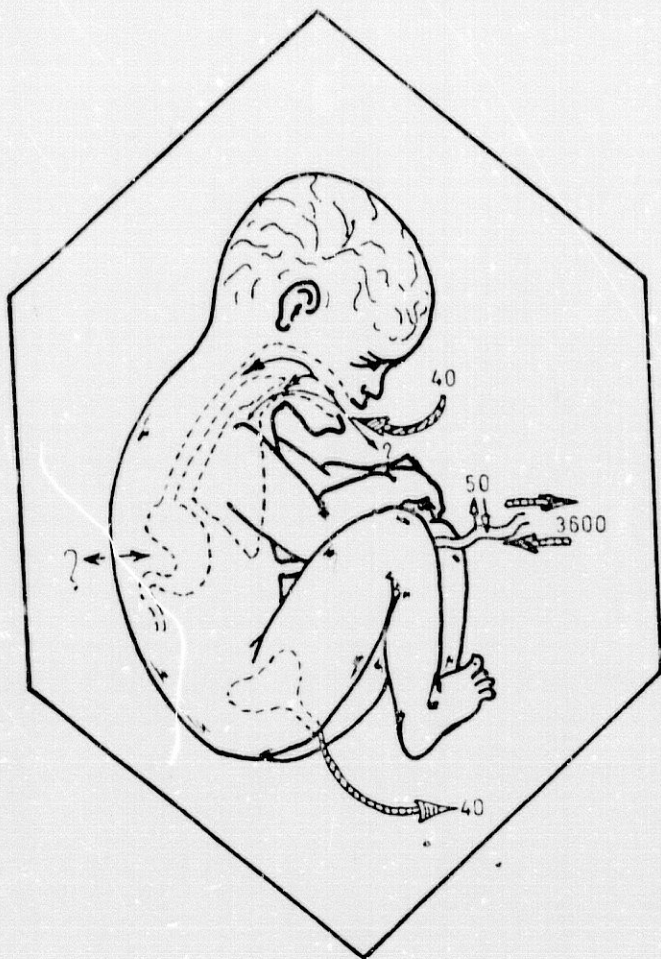


Fig.2. Intercambio a nivel fetal de líquido amniótico

1.2. BASES FISICO-QUIMICAS DE LAS MEMBRANAS CORIOAMNIOTICAS

La vía principal entre el líquido amniótico y la madre se realiza a través de las membranas¹⁵ (Ver figura 3⁴).

La superficie amniótica es de 1.200 cm^2 ¹⁶ y se llegó a la conclusión que el corioamnios se comporta como una membrana semipermeable, parcialmente, con poros. De sus estudios¹⁶ se concluyó que el calibre de los poros del Amnios es de 76 \AA y para el Corion de 85 \AA . A través de dichos poros difunde agua y electrolitos⁸. Encontrándose un intercambio de Sodio de $17,7$ microequivalentes m^2/hora y $16,3$ para el corioamnios. Otros autores hallaron datos similares para urea, na y creatinina¹⁷.

Varios autores, entre ellos MELLOR¹⁷, refieren un transporte pasivo por simple difusión, o sea, mediado por diferencia de concentración del equilibrio de DONANN o de presión oncótica. MELLOR encontró no haber diferencia de potencial entre madre, feto y líquido amniótico, con lo que se descarta un transporte activo.

SEEDS^{19,10,21} considera que el transporte a través del corioamnios se realiza por un mecanismo de flujo de masas, por lo que a través de los poros pasarían, además del agua, los electrolitos que se encuentran en solución, de tal forma que cambios pequeños en la presión hidrostática así como osmótica u oncótica, ocasionarían pasos masivos de fluido.

Otros autores como LIND^{6,8} consideran que hay un transporte activo, sobre todo para el sodio.

El mecanismo de transporte del líquido amniótico no está completamente claro. Existen factores fetales como son:

- Deglución.
- Micción.
- Respiración.

Estos factores tienen un papel poco importante en la primera mitad del embarazo y sin embargo la piel fetal sí juega un papel en esa primera fase. El cordón umbilical es un factor decisivo en el transporte del líquido amniótico. La edad gestacional es fundamental para comprender el mecanismo de circulación y reabsorción del líquido amniótico. En este sentido es sabido que el riñón fetal, funciona desde la 14 semana de gestación, pero es a partir de la 20 semana cuando el papel es decisivo, al contribuir, de forma creciente la orina fetal y composición del líquido amniótico. Así se observa como aumenta la concentración de Urea, Acido Úrico y Creatinina, en cambio se aprecia un descenso de la Osmolaridad y el Ph a medida que evoluciona la gestación^{21,22,23,24}.

Es claro, pues, que la orina fetal es un componente fundamental del líquido amniótico en la 2ª mitad del embarazo y, por razones obvias, es en esta fase donde tiene especial interés el estudio de la madurez fetal renal, como sus aplicaciones prácticas en la evaluación del estado de madurez o inmadurez del feto, así como de la eventual patología fetal.

La reabsorción del líquido amniótico por parte del feto ocurre por varias vías. Mediante la deglución se reabsorben 500 ml/día. Igualmente a través de la superficie fetal de la placenta y pulmón existe una reabsorción considerable²⁵.

Al final del embarazo la composición del líquido amniótico es la resultante del intercambio de aquel con el feto, a través del riñón y aparato digestivo. Así, hay una diuresis de 700 ml/día hacia el líquido amniótico. Dicho fluido es de baja osmolaridad. Simultá-

neamente son deglutidos y absorbidos 500ml. Para mantener la osmolaridad es preciso que parte del agua libre, no unida a solutos, sea recuperada por el feto por vías alternativas: la superficie placentaria, así como hacia la madre por el coriarnnios.^{26,27,28}

Existe pues un dinámico intercambio de líquido amniótico entre los tres compartimientos: madre, feto y amnios. Permanecen al final de la gestación 700-800 ml. en el saco amniótico.^{24,29,30,31}

Referente al recambio de solutos del líquido amniótico es de destacar por su interés el hecho de que los electrolitos y compuestos orgánicos, marcados con isótopos e inyectados en el saco amniótico, desaparecían según una tasa de recambio específica. Su interés clínico y práctico es primordial por la posibilidad de estudios dinámicos renales fetales, administración de fármacos al feto por vía intramniótica, etc., etc.^{32,33}

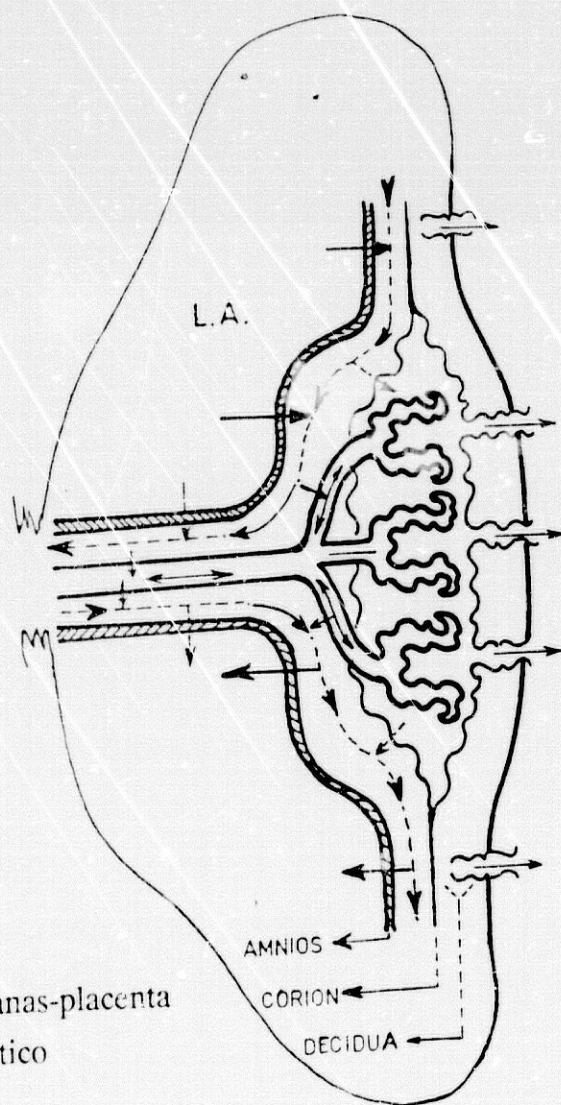


Fig.3 Intercambio entre membranas-placenta y cordón de líquido amniótico

1.3. VOLUMEN Y COMPOSICIÓN FÍSICO-QUÍMICA DEL LÍQUIDO AMNIÓTICO

Mediante métodos diversos, como el para-aminohipúrico de THOMPSON y Cols³⁴ se ha podido evaluar volumen de líquido amniótico, a lo largo de la evolución de la gestación. A la 12ª semana hay una cantidad media de 50 ml. con promedio semanal en cuanto a incremento por semana de 20 ml. entre la 10 y 14 semanas. Posteriormente el incremento hasta la 28 semana es de 50 ml/semana. El feto de 20 semanas estaría envuelto en un volumen de líquido amniótico de 400 ml. y está muy relacionado dicho volumen, en esa primera mitad del embarazo, con el peso fetal.^{26,35}

Alrededor de la 38ª semana la cantidad alcanzada sería próxima a 1000 ml. como máximo, y posteriormente disminuye hasta valores próximos a 600 ml. a la 43 semana.^{38,37,38.}

La estimación de la cantidad de líquido amniótico tiene interés especial para el conocimiento de la patología fetal. En este sentido, llamamos polihidramnios a toda cantidad superior a 2000 ml.. Esta anomalía ha sido relacionada con:

Anencefalia, embarazo gemelar, malformaciones faciales, obstrucción de partes altas del aparato digestivo, mielomeningocele, etc.^{30,39,40} Por el contrario el oligoamnios, escasez de volumen de líquido amniótico, ha sido objetivado en: Agenesias renales y en síndrome de insuficiencia fetoplacentaria.^{36,37,41}

El líquido amniótico presenta una composición porcentual de 98-99% de agua y 1-2% de sólidos. Este último porcentaje de sólidos se reparte en mitad de sustancias orgánicas y mitad de inorgánicas.^{41.}

Revisando la literatura sobre la composición química del líquido amniótico es necesario tener en cuenta diversos trabajos.^{43,44,45,46,47,48,48.} En lo que respecta a las características físicas del líquido amniótico, como son: turbidez, viscosidad, peso específico, punto de congelación y tensión superficial, pocas conclusiones y aplicaciones se puede obtener de sus mediciones.^{50,51,52,53,54}

1.3.1. Sustancias inorgánicas

Electrolitos

Sus variaciones a lo largo de la gestación son escasas, por lo que no tiene valor como indicador de la maduración fetal, del mismo modo, la osmolaridad presenta escaso valor clínico, ya que las oscilaciones son dentro de un rango pequeño, p.e. para el feto de 37-42 semanas: 110-138 mEq/l. ^{49,31,55.}

Estado acido-base y gases

La PO₂ del líquido amniótico obtenida de forma anaerobia arroja valores medidos de 11 mm-Hg, con amplia variación individual. Así mismo al final del embarazo los valores medios oscilan de 4 a 43 mmHg. El valor final de la PO₂ del líquido amniótico es consecuencia de diversos factores: piel y orina fetal; vasos umbilicales y circulación materna. Actualmente no se puede sacar conclusiones como pauta o indicador de la situación de la vitalidad del feto. ^(56,57,58,59,60)

Progresivamente se produce una acidificación a lo largo de la gestación, por lo que este hecho ha sido aprovechado para determinar la edad gestacional del feto. Según VOTTA⁶¹ en 35 embarazos normales, en la determinación del equilibrio acido-base se encontraban diferencias en los menores de 32 semanas y mayores de 32. Esta diferencia se establecía de forma que había más acidosis mixta en el grupo de más de 32 semanas, coincidente con otros autores. ^{62,63.}

Al final del embarazo el riñón fetal puede influir y regular, en parte, el equilibrio ácido-base, eliminando el líquido amniótico orina más o menos ácida, el Ph amniótico podría tener un valor significativo como indicador de la vitalidad fetal, al final del embarazo.

Los valores⁶¹ del equilibrio ácido-base de más interés son: pH: (a) menores de 32 semanas: $7,13 \pm 0,07$ D.S.; (b) Mayores de 32 semanas: $7,08 \pm 0,06$ D.S.

pCO₂: (a) $43,9 \pm 6,51$ D.S.; (b) $44,7 \pm 6,88$ D.S.

Bicarbonato Standard mEq/l: (a) $14 \pm 1,6$ D.S.; (b) $12,4 \pm 0,5$ D.S.⁶¹

1.3.2. *Sustancias orgánicas*

Proteínas

Serán estudiadas con detalle en el apartado 1.6.

Aminoácidos

El estudio de los diversos aminoácidos del líquido amniótico es de gran importancia para la detección precoz de anomalías relacionadas con el desarrollo fetal. La cuantía de los aminoácidos disminuye con la edad gestacional. Especialmente la hidroxiprolina aumenta hasta la 28 semana y posteriormente disminuye hasta el "feto a término"; si bien el descenso es mayor, si hay retardo del crecimiento intrauterino.^{64,65,66,67,68}

Sustancias nitrogenadas no protéicas

Estas sustancias, como son la urea, creatinina, ac.úrico, tienen un interés especial en este estudio al aportar datos valiosos para el estudio nefrológico fetal.^{69,70,71.}

La urea y el ácido úrico, presentan pequeña variación en los grupos por semanas de edad gestacional y, a su vez, gran dispersión individual. No obstante, la Creatinina presenta unos límites más claros entre los diferentes grupos de semanas de edad gestacional, por lo que es un parámetro más fiable en la evaluación de la madurez fetal.^{72,73,74,75,76}

La creatinina en el líquido amniótico es uno de los parámetros de la maduración fetal. Se comprobó que la orina fetal presenta una concentración de creatinina dos o tres veces superior a la del líquido amniótico. Por ello, diversos autores, concluyeron que la maduración renal fetal conllevaría un aumento de la concentración de la creatinina en el líquido amniótico a medida que progresaba la gestación.^{21,77}

PITKIN⁷⁵ halló valores de 20 mg/l. de creatinina para 37 semanas de gestación sobre 130 casos y, al mismo tiempo, demostró no haber diferencia entre gestación normal y patológica, vease figura 4.^{78.} Muchos autores han publicado trabajos sobre la relación creatinina amniótica y edad gestacional.^{79,80,81,82}

Siguiendo a VOTTA⁸³ podemos puntualizar que la concentración de creatinina amniótica, es equiparable a la concentración serica de la madre, hasta la 33-34 semanas de

gestación. Posteriormente hay un incremento lento hasta las 36 semanas y un brusco aumento de la 36 a 38 semanas. De estos datos se desprende la posibilidad de utilizar este parámetro como indicador de maduración renal fetal, además de indicar la maduración muscular y hepática del feto. Valores por debajo de 16mg/l. (1,6 mg/dl) de creatinina hacen concluir que la edad gestacional es inferior a 37 semanas y por encima de esa cifra es superior a 36 semanas^{83, 84, 85, 86, 87}.

Respeto a la postmadurez fetal y gestaciones de madres diabéticas son concluyentes los resultados de los diversos autores^{83, 84, 85, 86}, en el sentido de no existir diferencias significativas en las concentraciones de creatinina amniótica, en estos grupos patológicos comparados con el grupo normal.^{84, 85, 86}

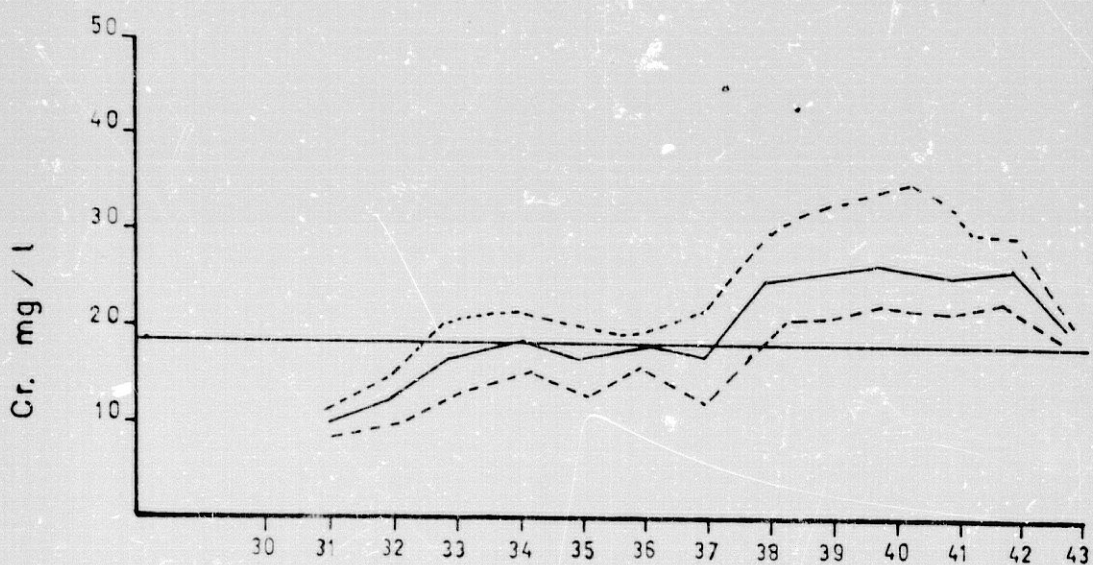


Fig.4. Correlación semanas de gestación y creatinina amniótica

En realidad la cantidad total de creatinina en el líquido amniótico es teóricamente, mejor indicador que la valoración cualitativa de la misma, en mg/l. ó mg/dl.. Sin embargo VOTTA83 concluye, en su estudio, que no existe correlación entre el volumen de líquido amniótico y disminución de la concentración de creatinina, como habían sugerido otros autores^{88,89,90,91,92}.

Lípidos en líquido amniótico

La determinación de la concentración de lípidos totales, presentan ligeras variaciones, a lo largo de la gestación, por lo que ha podido utilizarse como indicador de madurez fetal. Sin embargo, los fosfolípidos sí presentan modificaciones durante la gestación tanto cualitativa como cuantitativamente. El total de fosfolípidos asciende desde 21 mg/l. (2,1 mg/dl) a la 15ª semana, hasta 52 mg/l. (5,2 mg/dl.) a la 40ª semana⁹³.

La lecitina sufre un ascenso a partir de 34-35 semanas hasta llegar a término, presentando un 65% del total de fosfolípidos. La lecitina es pues, el componente fosfolipídico del líquido amniótico. Se forma: A) a partir de la fosfolintransferasa en los fetos de más de 35 semanas; B) mediante el mecanismo de la metiltransferasa, presente en fetos de menos de 35 semanas^{94,95}.

El diagnóstico de madurez pulmonar fetal y la enfermedad de las membranas hialinas, son hechos relacionados con la tensión superficial, de tal suerte que su ausencia en el pulmón conlleva a dicha enfermedad. Posteriormente a ese fenómeno físico, se encontró un fundamento químico, como era la ausencia de sustancia tensioactiva en el pulmón, que fue identificado como un fosfolípido^{96,97}. Esta sustancia fue denominada por SCARPELLI⁹⁸ como "surfactante".

Desde el punto de vista práctico para valorar la madurez pulmonar fetal, hay varias determinaciones:

Lecitina en líquido amniótico.

Cociente lecitina/esfingomielina (L/E) o (l/S).^{99,100,101,102}

Para hacer más expresivos estos datos y sus valores vease figuras 5 y 6¹⁰³.

El cociente L/E: menor de 1 correspondería a gestación menos de 28 semanas; si es 2, puede tener una edad aproximada de 31 a 32 o más semanas; si es más de 3 es seguro una gestación superior a 33 semanas^{104,105,106,107}.

El segundo componente del "surfactante" es el fosfatidilglicerol que aparece en el líquido amniótico a las 36 semanas y su concentración se eleva rápidamente^{107,108}.

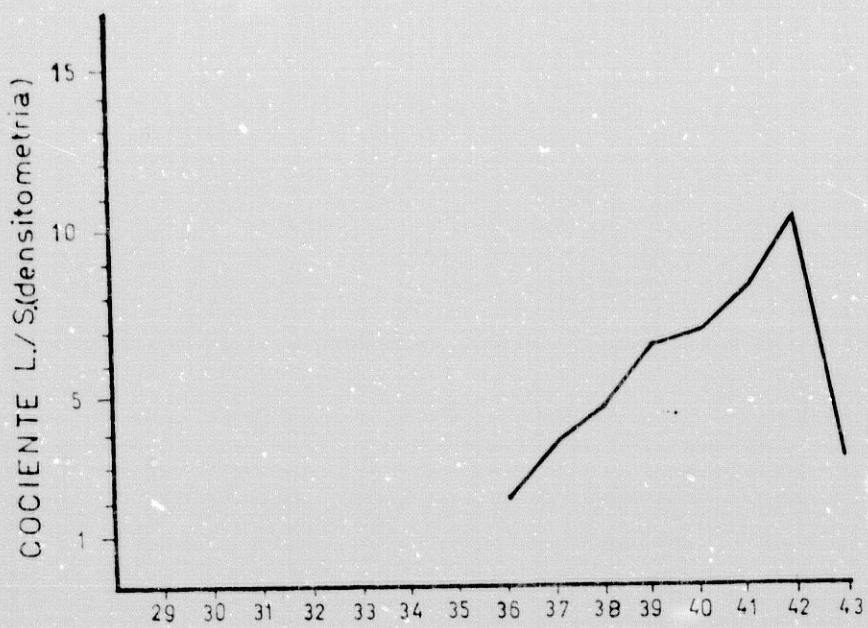


Fig.5. Correlación edad gestacional y cociente L/S

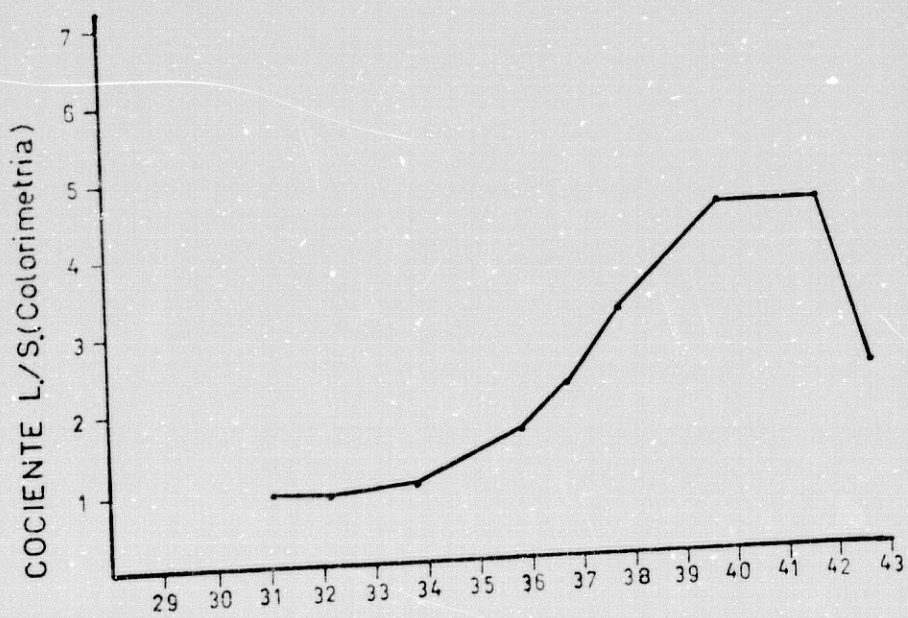


Fig.6. Edad gestacional

Hidratos de carbono

Varios carbohidratos han sido determinados en el L.A. La glucosa presenta valores medios de 200 mg/l. (20mg/dl.) al término de la gestación. El ácido láctico, presenta un rango de 35 a 160 mg/dl. El ácido pirúvico, oscila de 0,8-1,3 mg/dl., así mismo el ácido cítrico, en "gestación a término", presenta valores medios de 3,93 mg/dl.^{109,110}

Vitaminas y enzimas

Las determinaciones de Vitaminas C y B₁ en líquido amniótico, presentan unos niveles similares al plasma materno. La fosfatasa alcalina se eleva al avanzar la gestación. Los niveles de amilasa ascienden a partir de la 36 semana, de forma que cifras superiores a 200 UI/l. se correlacionan con madurez fetal³¹.

La monoaminooxidasa aparece en la segunda mitad de la gestación y eleva su nivel con la progresión del embarazo; su presencia se detecta por la aparición en líquido amniótico del Ac. 5-hidroxi-indolacético^{111,112}.

Bilirrubina

Mediante espectrofotometría a 450 nm se ha demostrado que la diferencia de la densidad óptica disminuye, a medida que progresa la gestación, incluso llega a desaparecer hacia la 37 semana, de forma que pasa de D.O. de 0,03 a 0,18 a la 16 semanas; de 0,01 a 0,06 a la 34-36 semanas. Sin embargo su interés práctico no radica en su valor como parámetro de madurez fetal, sino para el pronóstico de la isoimmunización Rh^{59,113}.

Productos o metabolitos hormonales

Las determinaciones hormonales presentan grandes dificultades por lo complejo de la proteólisis. No obstante, diversos autores^{114,115,116} han estudiado las concentraciones hormonales en diferentes estadios de la gestación. Han sido determinados los valores de corticoides androgenos, progesterona y metabolitos, gonadotropina orgánica coriónica, prostaglandinas, renina, occitocina, etc. Los resultados arrojan datos muy dispares, por lo que es difícil establecer patrones para diagnóstico de maduración o bienestar fetal.

Hay algunas hormonas que presentan interés práctico; así el estriol en líquido amniótico ha sido determinado en tres periodos de la gestación presentando los valores siguientes:^{117, 118}

a) Menos de 20 semanas:	3-41,3 ng/l;
b) 20-36 semanas:	20-631 ng/l;
c) 37-42 semanas:	292,6-2159,3 ng/l.

1.4. CITOLOGIA AMNIOTICA Y MADUREZ FETAL

En 1966 se aplica la técnica de azul de nilo para la tinción de células fetales y consiguen correlacionar, positivamente, el porcentaje de células anaranjadas y la maduración fetal. VAN LEENWEN¹¹⁹ descubre dos tipos de células en líquido amniótico, las fetales y las amnióticas.

Con la técnica PAPANICOLAU distinguimos varios tipos celulares: 1) Células anucleares. 2) Células superficiales con núcleos picnóticos. 3) Células intermedias. 4) Células profundas o parabasales¹²⁰.

Mediante la técnica del sulfato de azul de nilo: 1) Células azules. 2) Células azules-anaranjadas. 3) Células anaranjadas. 4) Lípidos libres¹²¹.

El líquido amniótico es acelular hasta la 14ª semana. Desde esa fecha y hasta la 32 semanas la cantidad celular es escasa. A partir de la 37ª semana hay un gran aumento¹²⁰.

Es aceptada la teoría de BRONSENS y GORDONS¹²² según la cual las células anaranjadas derivan de glándulas sebáceas fetales y están llenas de lípidos; dichas células aparecen a la 32 semana y experimentan un brusco incremento a la 37 semana. Otros autores¹²³ dicen que esto es discutible, porque las células anaranjadas están cornificadas según demuestran sus estudios.

WACHTEL y COLS¹²⁴ obtuvieron células cilíndricas en el amnios placentario y parietal. Si el embarazo era inferior a 32 semanas procedían de la siguiente forma: a) de 9-16 semanas, hay células parabasales; b) de la 16-32 semanas, células cúbicas y c) más de 36 semanas, aparecen células cilíndricas.

Teniendo en cuenta la citología es probable determinar si una gestación es "a término" (más de 38 semanas) ó "pretérmino" (igual o menos de 37 semanas)¹²⁰.

Para ello delimitamos los siguientes aspectos: 1) Determinar la densidad celular; 2) Porcentaje de tipos celulares; 3) Índice lipídico.

1) La densidad celular, con cámara cuentaglóbulos de THOMAS, permite obtener los siguientes resultados: a) promedio de 83,40 células/mm³ para 28-37 semanas; b) 272,20 para 38-42 semanas; la desviación típica fue elevada, por lo que es una ayuda útil, pero no suficiente para establecer un diagnóstico de madurez fetal.

2) El porcentaje de los distintos tipos de células, fue determinado por VOTTA¹²⁰ con técnicas de Papanicolau. Hallaron los siguientes resultados al respecto: Los valores medios para 28-37 semanas fue de 10% y para 32-42 semanas de 22,13%, al igual que el parámetro anterior se mostró bastante útil, pero con una desviación típica considerable,

3) Índice lipídico. Fue publicado por BRONSENS¹²⁵ en 1966, arrojando los resultados que a continuación se citan:

a) Menor de 34 semanas, menos de 1% de células lipídicas.

b) 34-38 semanas, 1-10%.

c) 38-40 semanas, 10-15%.

d) Mayor de 40 semanas, más de 50% de células lipídicas.

Diversos autores^{126,127} coinciden con estos resultados, que configuran a índice lipídico como indicador de madurez fetal.

En lo que respecta a embarazos patológicos tiene interés el saber si los indicadores de maduración fetal, mediante el índice lipídico, se alteran o mantienen la misma relación. En este sentido se destacan varias patologías del embarazo:

a) *Gestosis-hipertensión*: Es una indicación típica para determinar la madurez fetal, ya que nos permite distinguir "Fetos inmaduros" de otros de "Bajo peso para su edad gestacional", antes de la decisión de interrupción del embarazo en beneficio fetal. En estos casos, hay relación de edad o semanas de amenorrea, pero no con el peso fetal; así como que el crecimiento intrauterino retardado (CIR) por disfunción placentaria no afecta a la citología amniótica¹²⁸.

b) *Embarazo prolongado y en la enfermedad hemolítica*: La determinación de células lipídicas no arroja determinación significativa con relación al embarazo normal¹²⁰.

c) *Polihidramnios*: En esta situación, obviamente, el porcentaje de células anaranjadas es menor debido a la dilución del líquido amniótico¹²⁹.

d) *Diabetes*: Es de sumo interés el diagnóstico de la maduración fetal, ya que esta anomalía perjudica la unión feto-placentaria que hacen indicar, a veces, la interrupción del embarazo. Siguiendo a BELITZKY¹³⁰ se puede concluir que en estos embarazos patológicos, el índice lipídico y las "células naranjas" no varían sus porcentajes con relación a las gestaciones normales.¹²⁰

Si bien el tema que se trata aquí, es el referente al líquido amniótico, se relatan, someramente, las técnicas de diagnóstico prenatal utilizadas en la actualidad, y se pasa a una revisión más completa, en lo que se refiere al estudio bioquímico y citológico¹³¹, como datos para la determinación intrauterina de anomalías fetales.

1.5. DIAGNOSTICO PRENATAL DE ANOMALIAS FETALES

1.5.1. Técnicas de diagnóstico prenatal

Ecografía

Las peculiaridades del feto de estar en un medio líquido y sus características, han permitido un gran desarrollo en las exploraciones ultrasónicas, que han hecho posible el estudio morfológico normal y patológico del feto.

Para conocer la morfología por ecografía es necesario tener una estimación precoz de la edad gestacional; para diferenciar un estudio longitudinal ecográfico se hacen dos exploraciones ultrasónicas: la primera de la 17ª semana y la segunda a la 32ª. En la primera se pretende determinar la edad gestacional y detectar anomalías congénitas del feto, así como muerte fetal etc. En la segunda exploración se evaluará el crecimiento fetal y otros aspectos como localización de la placenta, estatura fetal, etc¹³².

La estimación de la ecografía a la 16ª semana se realiza con la medida de la circunferencia cefálica y los diámetros biparietales, occipito frontal, etc. Si hay incongruencia entre la fecha de amenorrea y la edad gestacional estimada por ecografía, se da prioridad a

la estimación ecográfica de la edad gestacional, salvo que la discordancia sea menor de dos semanas, en cuyo caso se repite la ecografía, haciendo la corrección pertinente de la estimación de fecha de "parto"¹³³.

Las anomalías estructurales detectadas por ecografía fetal son: anencefalía, microcefalia, espina bífida, hidrocefalia, encefalocele, quistes cerebrales; anomalías del tracto urinario (agenesia renal, poliquistosis, uropatías obstructivas, etc); anomalías toracoabdominales (atresias intestinales, hernia diafragmática, etc)¹³⁴.

Otras técnicas de diagnóstico prenatal como: Biopsia corial, fetoscopias, paracentesis fetal, funiculocentesis, cardiocentesis, etc. tienen menos interés para este estudio¹³⁴.

Amniocentesis

Fue en los años 50 cuando se introdujo para el estudio de la bilirrubina en los casos de anemia hemolítica fetal. Posteriormente, se aplicó para la estimación de la maduración pulmonar fetal, mediante las determinaciones de lecitina y esfingomielinea¹³⁴.

En 1966 se inició el cultivo de células de líquido amniótico y en 1967 se realizó el primer diagnóstico de cromosomopatía, así como se estableció el diagnóstico de síndrome de DOWN y la galactosemia³⁴.

Habitualmente, la edad gestacional en la que se efectúa la amniocentesis es alrededor de la 16ª semana de amenorrea, basándose en somatometría ecográfica. En la primera mitad de la gestación, la aplicación diagnóstica prenatal es básicamente para determinación en líquido amniótico de:

Cariotipo de amniocitos.

Alfa fetoproteínas.

Acetilcolinesterasa y, otras determinaciones para descartar enfermedades metabólicas.

Al mismo tiempo, como ya hemos referido, el estudio bioquímico del líquido amniótico sirve para medir los niveles de bilirrubina en la enfermedad hemolítica fetal y para establecer el grado de madurez pulmonar fetal por el cociente lecitina/esfingomielinea.

Mención especial merece la alfafetoproteína. El feto excreta por orina, bilis, y meconio AFP que pasa al líquido amniótico. Si su concentración plasmática fetal fuese elevada

pasa al LCR y siempre que el tubo neural esté abierto ocurrirá paso de AFP al líquido amniótico^{134,135}.

La concentración en líquido amniótico es 100 veces inferior a la del plasma fetal, pero con evolución paralela. Antes de la 22 semana puede alcanzar una concentración en líquido amniótico de 25 mcg/l. y tras la 22 semanas estos valores bajan a menos de 10 mcg/l. En varias situaciones patológicas se ha detectado elevación de AFP en líquido amniótico. De ellas, la que está más sancionada por el uso, son los defectos abiertos del tubo neural. Igualmente en la atresia esofágica, encefalocele, nefrosis congénita tipo finlandes, gemelaridad, muerte fetal, transfusión feto-materna, se ha comprobado elevación en suero materno de AFP, que sería explicado, en muchos casos por el aumento de la excrección urinaria, por la falta de absorción intestinal y la contaminación consiguiente placentaria hacia la madre. La determinación de la acetilcolinesterasa en líquido amniótico está siendo utilizada como complemento de la AFP en el diagnóstico de los defectos del tubo neural, ya que disminuye los falsos negativos y los falsos-positivos^{134,136}.

1.6. PROTEÍNAS EN LÍQUIDO AMNIÓTICO

Existen múltiples hipótesis para explicar el origen de estos compuestos químico-orgánicos. Los primeros estudios fueron a finales del siglo XVII por NEEDHAN en 1667 y LISTER en 1711. Y aún se continúa con dudas sobre su origen¹³⁷.

1.6.1. *Composición Proteínica del Líquido Amniótico.*

La cantidad de proteínas es muy escasa en el L.A., alcanzando sólo el valor de 2700 mg/l, que representa la 1/24 parte de la concentración sérica materna, y la 1/21 del feto, para una edad gestacional de 40 semanas. Coincide en esta afirmación los estudios de QUEENAN¹³⁸.

Siguiendo a QUEENAN¹³⁸ la evolución de la concentración de proteínas totales en L.A., muestra un carácter oscilante a lo largo de la gestación. Al principio de la misma se encuentran valores de 3800 mg/l. y ascienden hasta alcanzar un punto máximo de 6400 mg/l hacia la 24 semanas, para ir decreciendo hasta el final del embarazo, con valores similares a los del comienzo del mismo, próximos a 2700 mg/l a las 40 semanas. Véase para ilustrar estos datos la figura 7 tomada de QUEENAN¹³⁸.

Respecto al estudio de las composiciones o fracciones protéicas del mencionado total de proteínas, hay que señalar lo siguiente: la metodología aplicada en el laboratorio, modifica la «composición» de las distintas fracciones según varios autores. Así, CANDIANI¹³⁹ encontró todas las fracciones existentes en el suero, salvo la gammaglobulina. MENDELHALL¹⁴⁰ halló 8 fracciones de las mismas y STREBEL¹⁴¹, utilizando inmunolectroforesis encontró 16 proteínas distintas desde la 10 semanas hasta el final de la gestación. FICHBACHER¹⁴² con columna en poliacrilamida e inmunodifusión radial encuentra 21 bandas. AVINO¹⁴³, con electrofóresis en celogel encontraron las mismas fracciones protéicas. Véase figuras 8, 9, 10, 11 tomadas de AVIÑO con modificaciones¹⁴³.

Referente a la albúmina es preciso indicar que constituye la fracción más importante de las proteínas del L.A., presentando una evolución, en la que coinciden muchos autores como BREZEZINSKI¹⁴⁴, ascendente, en el sentido de alcanzar un 57,3% del albúmina al final del embarazo, o como BARBANTI¹³⁷ que le asigna un 57,4%; asimismo KARACHMER¹⁴⁵ da el valor de 65,2% y AVIÑO del 70%¹⁴³. Observando el porcentaje de albúmina del L.A., y la comparación con el del suero materno y fetal, se observa claramente que es muy similar al del L.A. y el fetal, por lo que algunos autores, como MENTASTI¹⁴⁶, llegaron a señalar un origen fetal de las proteínas del L.A.. En este sentido, fue más concluyente DANCIS¹⁴⁷, que al inyectar Albúmina marcada en la madre sólo apareció en exigua cantidad en L.A..

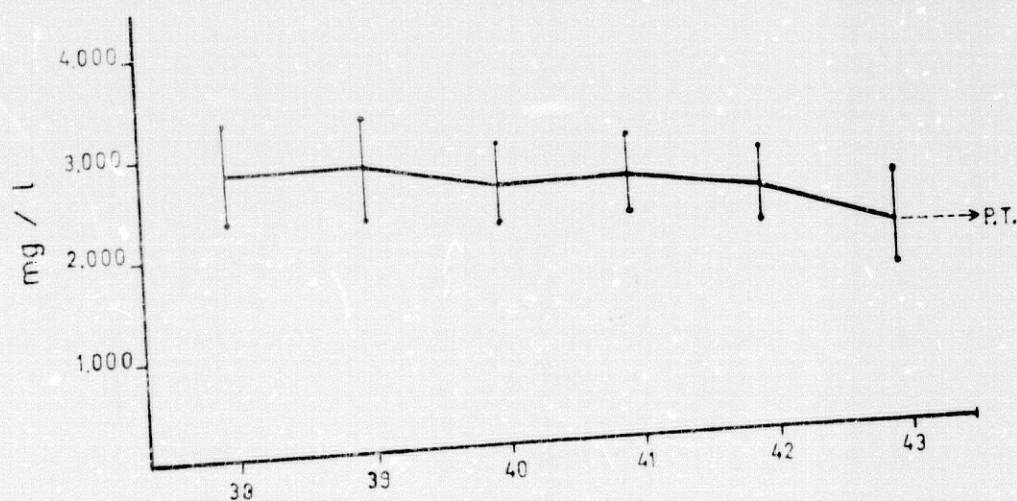


Fig. 7. Semanas de gestación y proteínas totales en L.A.

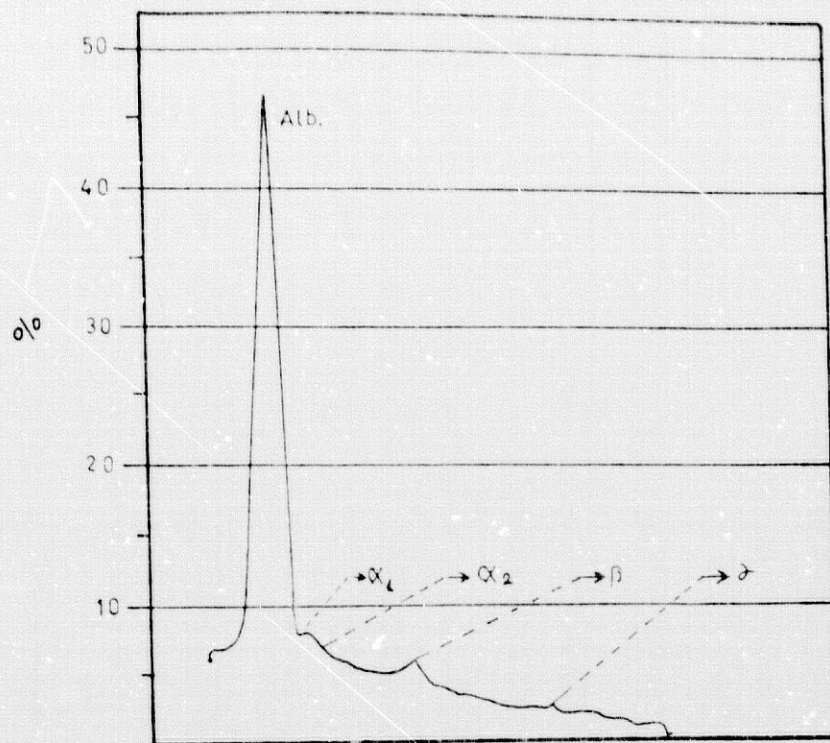


Fig. 8. Electroforesis de L.A. en celogel: porcentaje de proteínas amnióticas

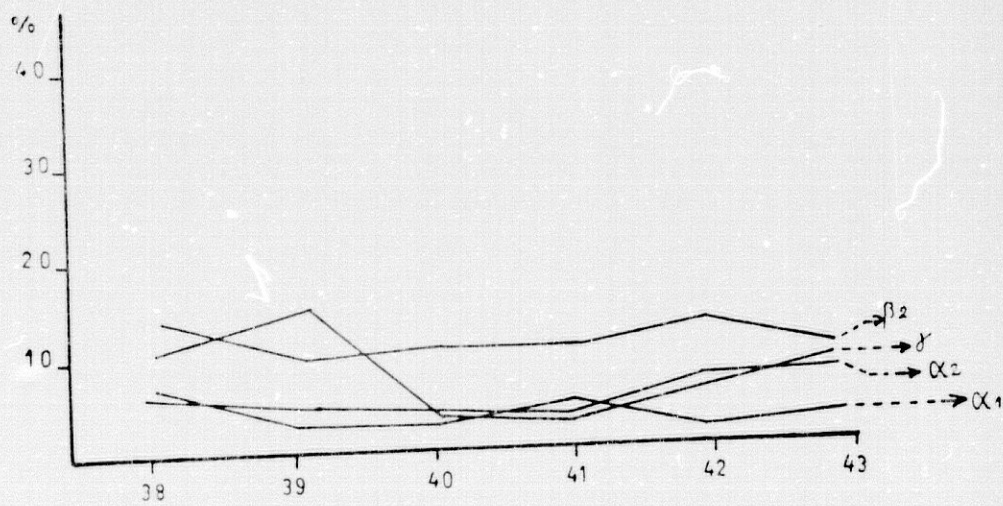


Fig. 9. Semanas de gestación y porcentajes de globulinas en L.A.

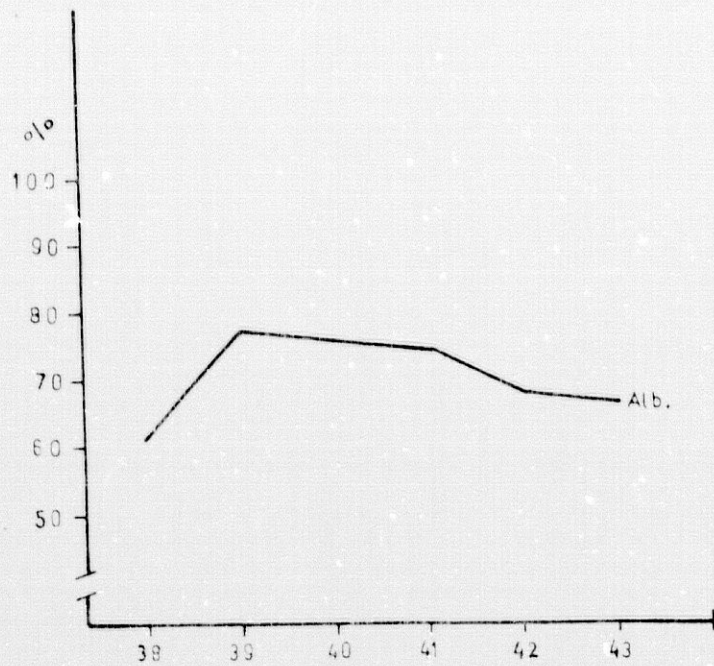


Fig. 10. Semanas de gestación y porcentajes de albumina en L.A.

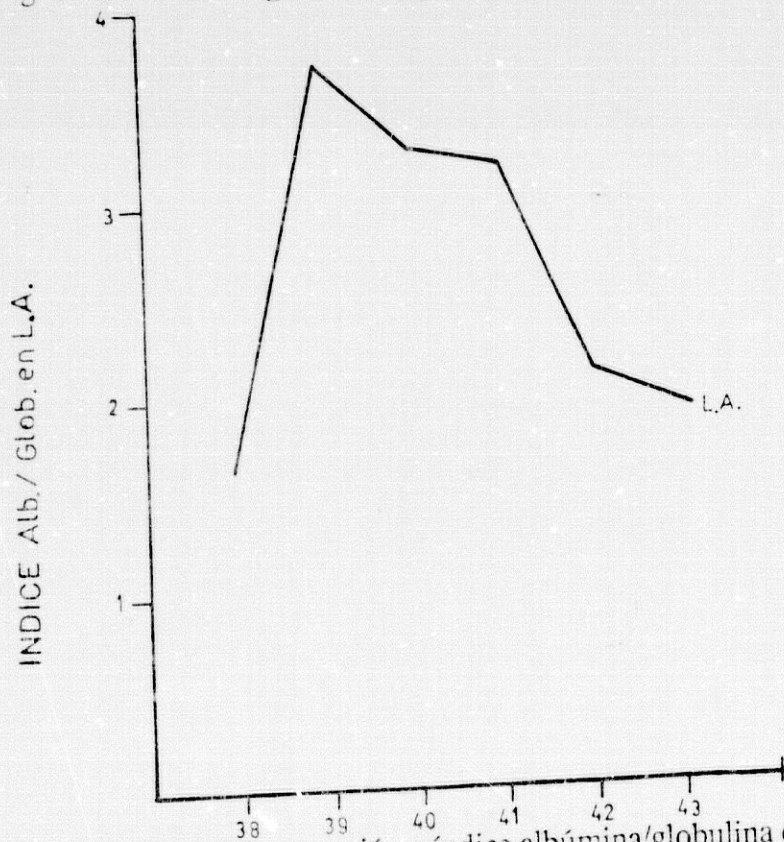


Fig. 11. Semanas de gestación e índice albúmina/globulina en L.A.

Si nos limitamos a las fracciones de globulinas del L.A., hay que decir que se han encontrado en pequeñas cantidades, si bien con diferencias, según los autores¹⁴⁸. Así para la alfa₁-globulina AVIÑO¹⁴³, encontró un 3% de valor medio. La alfa-globulina, para estos mismos autores, está alrededor del 10%. La beta-globulina oscila entre 15-16% y su evolución en la gestación no presenta cambios según MICKAY¹⁴⁹. La gamma-globulina, con cifras porcentuales próximas al 7%, parece ser que no tiene variaciones importantes en la gestación¹⁵⁰, si bien otros autores¹⁵¹, introduciendo varias proteínas marcadas en el saco amniótico, observan que la IgG tienen su procedencia en la orina fetal. En resumen, las proteínas del L.A., y sus variaciones en la gestación, pueden ser influenciadas por diversos factores; y si bien presentan similitudes con las proteínas séricas maternas, cuando se estudia en sus distintas fracciones del proteinograma del L.A., presenta mas similitud con el proteinograma sérico fetal¹⁴³.

Revisando la bibliografía, observamos abundancia en la literatura médica múltiples estudios sobre alfafetoproteína y sus aplicaciones prácticas en el diagnóstico de los defectos del tubo neural, así como otras anomalías fetales^{152, 153, 154}; por otra parte, en fechas recientes se realizaron estudios diferentes sobre proteínas y péptidos en L.A., del tipo gonadotrofina coriónica, pepetido-c, renina, acetilcolisesterasa etc.^{155, 156}. En ellos se hacen valiosas aportaciones para el diagnóstico prenatal y el conocimiento del metabolismo proteico fetal. No obstante, en todos los estudios revisados hasta la actualidad, se adolece de un análisis de las diferentes proteínas y su valoración en función de tamaños y pesos moleculares; así como ausencia de relaciones de dichos parámetros con la maduración fetal e implicaciones renales, en orden a encontrar posibles correlaciones entre maduración fetal y renal. Se asume que la orina fetal es un constituyente fundamental del L.A., y que los otros orígenes del L.A., así como las membranas biológicas, son coetáneas del riñón fetal, obviamente.

1.6.2. Origen y Circulación de las Proteínas del Líquido Amniótico.

Se estudió en el párrafo anterior la composición proteica del L.A., a la luz de los conocimientos actuales. Ahora se propone revisar los conocimientos existentes, acerca del origen de las proteínas y su circulación de la «Unidad materno-fetal-amniótica».

Existen diferentes hipótesis que concluyen que, en la vida fetal avanzada, existen 3 orígenes de proteínas del L.A.: a) materno; b) fetal; c) membranas ovulares.

a) *Origen materno.*

Esta procedencia sería explicada por filtración, a través de las membranas corioamnióticas, tanto de vasos deciduales como placentarios. Esta hipótesis fue defendida por AHLFELD en 1911¹⁴³ y se explicaría en el sentido de que las presiones negativas amnióticas, por aumento del líquido de forma progresiva, harían producir este filtrado mencionado más arriba, que se correspondería con lo que se llama L.A.. Posteriormente, C. ANTAROW, en 1933¹⁴³ objetivó nuevos parámetros bioquímicos como las proteínas totales, glucosa, calcio, fósforo, etc., del séptimo al noveno mes de gestación, concluyendo con ello que era un líquido resultante de la diálisis pura del plasma materno. Más recientemente los trabajos de varios autores, como DERRINGTON y otros, empleando inmuno-difusión radial apoyaron la hipótesis del origen materno^{150, 157}.

b) *Origen fetal y amniótico.*

Sobre la procedencia fetal hay múltiples hipótesis; la de HALLER que, en 1767, creía que la fuente del L.A. estaba en la orina fetal. Por otra parte HOST, en 1948, afirmaba el origen por trasudación de la piel fetal, de las glándulas salivales o de secreciones pulmonares; otros hacen análisis críticos de las diversas teorías, fundamentalmente, de la teoría fetal renal^{143, 151}.

Otras hipótesis hablan en favor de un origen del fluido amniótico, a partir de las membranas corioamnióticas. Diversos estudios, como el CARGNELLO¹⁵⁸ respaldan el origen por acción secretora del epitelio amniótico, pero afirmando que, por esta vía, solo es posible la filtración de agua y cristaloides al ser una membrana semipermeable y la ausencia de filtración de macromoléculas protéicas; estas proteínas se encontrarían en el L.A., según esta hipótesis, por un fenómeno de secreción descamativa del epitelio^{158, 159}.

MENTASTI¹⁴⁶, insistiendo en la hipótesis del origen fetal, observa en el feto isoimmunizado alteraciones de proteínas que no se expresan en el L.A., por lo que afirma que las membranas amnióticas derivan del embrión, y las proteínas del fluido amniótico, si proceden de él, son fetales desde el punto de vista de la ontogénesis.

No existe, pues, un origen exclusivo del L.A.. Esto hace que el problema subsista y, al no haber un origen unitario, hay que realizar las investigaciones bajo una óptica «tripartita»: madre, feto, y L.A.. Pero el interés más evidente que presenta este problema es que,

con él, podemos encontrar el fundamento de la predicción diagnóstico precoz, profilaxis y terapéutica fetal de las múltiples anomalías del mismo y, por supuesto, las aportaciones de su estudio a la valoración de la madurez fetal y/o el cálculo de la edad gestacional.

1.6.3. *Pesos Moleculares de Proteínas y Transporte a través de las Membranas Biológicas.*

El conocimiento de la estructura de las membranas biológicas ha sufrido múltiples modificaciones debido a las variadas investigaciones bioquímicas, microscópicas, etc. El esquema estructural es una organización en forma de hoja, formada por lípidos, en los que los fosfoglicéridos, esfingolípidos y el colesterol se orientan hacia las áreas hidrofóbicas de dichas moléculas. Esta estructura es muy parecida a la de los liposomas; los modelos presentados para explicar la estructura de las membranas biológicas han variado ostensiblemente desde 1935 hasta el modelo reciente de J.D. ROBERTSON¹⁶⁰; en el periodo de los años sesenta, S.J. SINGER hizo la propuesta del modelo en mosaico para las membranas biológicas; en dicho modelo se proponía a las proteínas sobre la superficie atravesando la doble capa lipídica.

Esta estructura mencionada en el párrafo anterior sirve para explicar varias de las propiedades de las membranas biológicas de los mamíferos. La doble capa presenta propiedades físico-químicas que justifican, a su vez, muchas propiedades de las membranas: la flexibilidad de las mismas, la impermeabilidad a muchas sustancias y propiedades autosellantes¹⁶⁰.

Las proteínas, que se sitúan en la superficie de la membrana, son fácilmente separables y constituyen proteínas extrínsecas. Otras proteínas participan en el transporte electrónico de la membrana interna de la mitocondria, y están organizadas formando una unidad funcional. Las proteínas intrínsecas, que poseen características de actividad enzimática, tienen un centro catalítico en el lado interior o exterior. En conclusión, las membranas biológicas presentan un grado intenso de organización molecular, que es difícil de examinar mediante modelos de diagrama¹⁶⁰.

Las membranas celulares son muy dinámicas, dado que no experimentan solo movimientos de lípidos y proteínas sobre la membrana, sino que múltiples moléculas entran y salen de la misma. Obviamente, este dinamismo tiene características de equilibrio dinámico, en el que están implicadas múltiples fuerzas del tipo de interacciones hidrofóbicas y electrostáticas. Se crea una variedad importante de microambientes, de la porción hidrofóbica a la interfase con los ambientes circundantes; este dinamismo y fluidez que ocurre en el tiempo son difíciles de expresar con palabras, esquemas o dibujos¹⁶⁰.

El carácter lipídico de las membranas modifican la naturaleza de las moléculas, que pudieran difundir de un lado a otro tanto la carga eléctrica, como el ambiente hidrofóbico de la membrana lipídica influyen en este transporte de moléculas.

Existen diversos mecanismos de transporte para las sustancias metabólicas, como los glúcidos y aminoácidos, así como para iones inorgánicos tipo sodio, potasio, cloro y bicarbonato. La difusión conlleva tres pasos:

- 1) El soluto debe pasar de un ambiente acuoso y penetrar en la membrana.
- 2) El soluto debe atravesar completamente la membrana.
- 3) El soluto traspasa completamente las membranas y entra en un nuevo ambiente, en el otro lado de las mismas¹⁶⁰.

Estos pasos implican un equilibrio de la sustancia con variadas limitaciones termodinámicas y cinéticas. La difusión simple de un soluto hidrófilo implica el liberarse de la molécula de agua y entrar en ambiente lipídico, pero además debe recuperar la cubierta acuosa, al salir al otro lado de la membrana biológica. Si las sustancias son hidrofóbicas todo dependerá de la distribución entre la fase acuosa y la membrana de lípidos, dependiendo del grado de solubilidad de la sustancia en cuestión; si éstas son muy liposolubles no producirá una disolución completa en la membrana. Dentro del sistema de los mamíferos los transportes de sustancia, a través de las membranas biológicas, presuponen la acción de proteínas intrínsecas, que reaccionan con la molécula a transportar, recordando el mismo mecanismo de como un enzima reacciona con el sustrato¹⁶⁰.

Todos estos mecanismos ocurren, generalmente, transportando sustancias a favor de «gradiente de concentración». Pero existen en el transporte celular mecanismos que hacen pasar sustancias de un lado a otro, contra un «gradiente de concentración», esto, obviamente, precisaría para que ocurriese el gasto de una energía por parte de la célula^{160, 161, 162}.

Difusión

Una sustancia difunde de forma directamente proporcional al grado de solubilidad en lípidos y a su coeficiente de difusión, que depende del tamaño y forma de la sustancia. Así pues, las moléculas lipofílicas (ac. grasos y esteroides) difunden rápidamente; por el contrario, las hidrosolubles (glúcidos e inones inorgánicos) lo hacen lentamente. El agua disolvente universal difunde muy rápidamente, a través de todas las membranas biológicas^{161, 162}.

A lo largo de la historia de la bioquímica siempre ha habido la creencia de que las membranas biológicas tenían poros, y, según su tamaño, se produciría una selección de las múltiples moléculas, a excepción del agua. Esta afirmación no deja de ser una creencia, pero no existen pruebas científicas definitivas de dicha existencia. La hipótesis más aceptada es que el trasiego de agua ocurre a través de huecos formados en un ambiente hidrofóbico y mediante un movimiento al azar de las cadenas grasas de los lípidos^{161, 162}.

El sentido del transporte de sustancias en difusión es, desde un lado, que está a más elevada concentración, a otro a más baja concentración, y se rige por el principio de la difusión de FICK^{160, 161, 162}.

Transporte facilitado

Muchas sustancias pueden pasar a través de las membranas biológicas mediante un movimiento, facilitado por la presencia de sistemas de transporte específico. Los iones inorgánicos y compuestos orgánicos (aminoácidos y glúcidos) presentan mecanismos de este tipo^{160, 61, 162}.

Esto no implica que todas las membranas celulares tengan idéntica capacidad de transporte; así la membrana plasmática tiene un sistema para transporte de sodio y potasio que, sin embargo, no está presente en las otras membranas celulares¹⁶².

Los mamíferos poseen en sus células sistemas de transportes específicos, para los cuales usan proteínas de la membrana, que tiene cierta especificidad hacia las sustancias transportadas. Son diversos los nombres con los que se designa a estos complejos portéicos, como son: portador, transportados, translocador, mecanismo de translocación, sistema de transporte facilitado, etc, etc. De toda esta sinonimia, el término transportador es el más expresivo, ya que implica la existencia de una proteína involucrada en el transporte de una sustancia. Todos los transportadores de membrana presentan características similares:

1. Facilitación del transporte de una sustancia a través de la doble capa lipídica, aumentando la velocidad del movimiento de forma superior a como se produciría por una difusión simple.
2. Saturación de la proteína transportadora de la membrana celular, a medida que aumenta el grado de concentración que ha de ser transportada; obviamente, después de haber transportado dicha sustancia, la velocidad alta, inicialmente, decae al ser saturada dicha proteína.
3. Especificidad con respecto a la sustancia transportada.

4. Existencia de inhibidores competitivos y no competitivos; en este sentido aquellas sustancias que presentan analogía estructural con el sustrato producen inhibición competitiva; los inhibidores no competitivos se caracterizan por ser sustancias reactivas que, valga la redundancia, reaccionan con grupos específicos de la proteína transportadora^{160, 161, 162}.

Transporte facilitado de forma activa

Estos mecanismos reciben, con frecuencia, la denominación de «bombas», aunque tienen las mismas peculiaridades que los transportes pasivos, como son: saturación, especificidad del sustrato, susceptibilidad de la inhibición, pero requieren, y aquí radica su diferencia, el suministro de energía, de tal forma que, si ésta no está presente o se inhibe, el sistema no funciona. Este sistema que utiliza gran energía tiene como finalidad el transporte de solutos contra un gradiente de concentración¹⁶².

La fuente fundamental de energía de este mecanismo de «transporte facilitado activo» es el ATP de tal forma que si se produjera su síntesis se llegaría a la inhibición. La hidrólisis del ATP que pasa a ADP y fosfato inorgánico produce una energía química, que es utilizada para el transporte activo de muchas sustancias, incluido el sodio. No obstante, el gradiente de concentración de sodio es, asimismo, utilizado para el transporte activo de sustancias, o sea, la utilización del ATP no tiene lugar de forma generalizada en todos los sistemas de transporte, sino que algunos recurren al gradiente de concentración de sodio transmembrana para tal transporte; si bien, el gradiente transmembrana de sodio, es conservado mediante la liberación de energía de la hidrólisis del ATP^{160, 162}.

Los sistemas de transporte en las células de mamíferos son, fundamentalmente, los que a continuación se enumeran:

- Glucosa, transporte pasivo y activo con sodio; tiene lugar en la mayoría de los tejidos, intestino delgado y túbulo renal.
- Fructosa, transporte pasivo; ocurre fundamentalmente en intestino o hígado.
- Aminoácidos, con transportadores específicos, mediante transporte activo con sodio; tiene lugar, fundamentalmente en los tejidos de intestino, riñón e hígado. Aminoácidos específicos se transportan mediante mecanismos pasivo y tiene lugar en intestino delgado.
- Ácido cólicos y similares tienen lugar mediante transporte activo con sodio e intestinos.

- Aniones orgánicos, transporte activo en las mitocondrias del hígado.
- Sodio, transporte pasivo, en células del túbulo renal distal.
- Sodio e hidrogeniones, transporte activo en túbulo renal proximal e intestino delgado.
- Sodio y potasio, transporte activo en todas las células.
- Calcio, transporte activo en todas las células.
- Hidrogeniones y potasio, transporte activo en células parietales de las glándulas gástricas.
- Cloro, bicarbonato y otros aniones, transporte activo facilitado, en hematíes y otras células.

Estos sistemas son solamente los que han sido estudiados en algunos tejidos, pero su localización puede ser mucho más amplia de la descrita^{160, 162}.

1.6.4. Transporte y Permeabilidad de Proteínas en el Riñón.

Si se considera que las paredes glomerulares son equivalentes a un «filtro», que permite el paso de macromoléculas, dependiendo de tamaño y su carga eléctrica, podremos llegar a conclusiones, acerca de la permeabilidad de las diferentes proteínas. En diferentes especies se ha investigado las características de filtro de los capilares, teniendo en cuenta el tamaño molecular, y han sido medidas las depuraciones o aclaramientos de moléculas grandes, pero de diferentes tamaños (polivinilpirrolidona, dextrano, etc.). Estas macromoléculas, tienen la peculiaridad de no sufrir reabsorción ni secreción imitando a la inulina. Por tanto, el aclaramiento relativo se hace equivalente al cociente entre la concentración de la sustancia correspondiente en la orina primitiva y en el plasma¹⁶¹.

Siguiendo esta línea de estudio fisiológico se podría puntuar el grado de permeabilidad desde cero, que sería la «impermeabilidad completa», a uno, que sería la «permeabilidad completa». Así pues, con el aumento del tamaño molecular disminuiría el grado de permeabilidad, llegando a cifras bajas cuando el tamaño de moléculas se aproxima a la albúmina humana (diámetro aproximado de 3,6 nm). El aclaramiento relativo se hace inferior a 1, si el diámetro llega a 2 nm. y es cero si son superiores a 4,2 nm.¹⁶¹

Está demostrado que, la selección que realiza el glomérulo sobre las moléculas que intentan pasar, no se establece en función del tamaño solamente, sino que la naturaleza de la

carga eléctrica influye de manera decisiva. En este sentido, es significativo observar como la depuración o aclaramiento relativo de la albúmina, a nivel del túbulo proximal por micropunción, alcance la cifra de 0,01 o inferior, en cambio el dextrano neutro del mismo tamaño hasta 0,15; esta limitación en el paso de la albúmina es explicado por la negatividad de su carga eléctrica. Es muy conocida la interesante conclusión de la influencia de la carga eléctrica en el paso a través de la membrana glomerular, así como, con tamaño idéntico el aclaramiento es más alto cuando el dextrano es catiónico (carga positiva), desciende en el dextrano aniónico, y presenta un grado de permeabilidad intermedia entre ambos, cuando el dextrano es neutro. La explicación físico-química de este fenómeno es atribuida a la repulsión electrostática que sufren las moléculas negativas (aniones), como las proteínas, que, con su presencia del ácido siálico, presentan carga negativa. La conclusión es tan interesante que la pérdida de carga negativa de las proteínas explicaría la presencia de proteinuria masiva en las glomerulonefritis experimentales^{161, 162}.

1.6.5. Proteínas y Polipéptidos: Metabolismo Renal.

El riñón presenta una intensa actividad bioquímica y metabólica, y no es un mero filtro inerte de las diferentes moléculas y su regulación en el organismo. Así pues, en él ocurre el catabolismo de muchas proteínas de peso molecular bajo (grupo que llamaremos «microproteínas»), que presenta un P.M. inferior a 50 Kdaltons, principalmente hormonas polipeptídicas, que tienen un peso molecular entre 1 a 25 Kdaltons, la mayor parte de las mismas. Sin embargo, los riñones son importantes para catabolizar, sólo en escasa cuantía, proteínas de alto peso molecular, del tipo de Albúmina y las Inmunoglobulinas^{162, 163}.

Las proteínas, de peso molecular superior a 50 Kdaltons, pasan con mucha dificultad los glomérulos y es posible que su catabolismo renal sea realizado, fundamentalmente, después de la extracción de las proteínas filtradas de la orina. De esta forma los riñones aportan un papel de «homeostasis» en la concentración sérica de hormonas polipeptídicas, ya que son el lugar donde, fundamentalmente se catabolizan. Pero este papel no hay que entenderlo como un mero mecanismo de homeostasis clásico, en el sentido de que una regulación de la concentración hormonal, por si misma, determina el grado de intensidad del catabolismo renal, sino que, únicamente, tiene un papel de participación de los riñones en todo el conjunto catabólico de las hormonas¹⁶¹.

Las funciones de degradación de los polipéptidos han sido ampliamente estudiadas, tanto en el animal como en el hombre, pero estos estudios fueron «in vitro», y mediante métodos y técnicas «in vitro». Por el contrario, «in vivo», tiene por objeto medir la extracción de polipéptidos efectuada por los riñones^{160, 161, 162}.

El cálculo de coeficiente de extracción, diferencia arterio-venosa con relación a la concentración arterial, alcanza valores entre el 20 y el 40%, según el polipéptido en cuestión. El aclaramiento metabólico renal se obtiene multiplicando este coeficiente por el flujo plasmático renal. Y pudiera ocurrir que, este valor, sobrepase el del filtrado glomerular, lo cual demostraría y demuestra de hecho, que el polipéptido se ha extraído de la sangre no por filtración y metabolización consiguiente; por el contrario, ha contribuido al mismo la extracción efectuada, a partir de los capilares peritubulares. En la orina final se encuentra una pequeña cantidad de polipéptidos, fundamentalmente si estos son hormonas¹⁶¹.

En el terreno de la patología, las hormonas polipeptídicas se elevan en el plasma, en función del grado de disminución del catabolismo renal, consecutivo a la Insuficiencia Renal Crónica, esta es la explicación fundamental del porqué aparecen fragmentos de molécula de hormona paratiroidea en la sangre, así como nuevas formas moleculares de algunas hormonas, como el glucagón y la calcitonina. Es obvio, que la disminución del catabolismo general contribuye a este fenómeno¹⁶¹.

Pero el riñón no sólo presenta funciones catabólicas, sino también de síntesis de varias proteínas específicas, de las que la mejor estudiada ha sido la proteína de TAMM-HORSFALL. Es una glicoproteína de membrana, componente fundamental de los cilindros renales, observados en la patología renal. Tienen propiedades particulares, agregándose si hay concentraciones, elevadas de iones y acidez¹⁶³.

1.6.6. Transporte de Proteínas en la Placenta

La mayoría de las proteínas son sintetizadas por el feto, a partir de los aminoácidos que atraviesan la placenta, desde el torrente circulatorio materno. Los aminoácidos libres están presentes en el suero fetal a niveles muy superiores a los de el plasma materno en el embarazo normal y «a término»; existe una relación entre estos parámetros de concentración de aminoácidos, que oscilan desde 1, 20 a 4, presentando un promedio de 1, 80¹⁶⁴.

La barrera placentaria no es fácil de atravesar. Muchos polipéptidos no la pueden atravesar o lo hacen muy lentamente. Así pues, es conocido que la insulina presenta un paso transplacentario muy lento y en minúsculas cantidades. La ACTH y la TSH maternas no son capaces de pasar la placenta, fenómeno comprobado porque en los animales decapitados el desarrollo tiroideo no se produce y los fetos anencéfalos presentan una hipoplasia suprarrenal¹⁶⁵.

En lo referente a los conocimientos sobre las proteínas y su transporte, es necesario señalar, que son transportadas en forma selectiva a través de la placenta, pero en cantidades muy variables. la inmunoglobulina G (165 Kdaltons) es transportada hacia el feto por la placenta; en cambio proteínas más pequeñas, como la albúmina (64 Kdaltons) y transferrina (90 Kdaltons) pasan en cantidades más pequeñas a través de la placenta. En el suero fetal se aprecian sólo pequeña cuantía de fibrinógeno (350 Kdaltons) y de macroglobulinas (1000 Kdaltons)^{164, 165}.

La IgG se detecta en el suero fetal en cantidades muy similares a la de la madre, a partir de la 26 semanas. Es evidente, pues, que, gran cantidad de proteínas de este tipo, pasan de la madre al feto y es necesario recordar que el feto no es capaz de sintetizar la gammaglobulina.

¿Pero cómo pasan estas macromoléculas proteicas, a través de las membranas placentarias?, y la respuesta es simple, aunque sigue perteneciendo al terreno de la hipótesis: mediante el mecanismo de «pinocitosis», como explicación factible que justifique el paso de moléculas proteicas de gran tamaño y la especificidad de la membrana para dicho transporte; solo tendría explicación, precisamente, mediante el mecanismo citado^{164, 165}.

La familia de los primates pueden transferir, posiblemente, las proteínas a través del líquido amniótico y el aparato digestivo fetal^{164, 165}.

Completando el ciclo metabólico de las proteínas hay que recordar que la urea, producto nitrogenado final de dicho metabolismo, se halla a concentraciones similares, tanto en sangre materna como del feto a término; si bien la concentración de dicha sustancia en el L.A. es muy superior que en los compartimentos mencionados, lo cual a nuestro entender es expresivo de la capacidad renal fetal para eliminar y concentrar la Urea, si bien, existen explicaciones de otra índole, como ser un intercambio lento del L.A. con el feto^{164, 165}. En las figuras 12, 13, 14, tomadas de la revisión de SUZUKI¹⁶⁵ con modificaciones, se puede ver esquematizado algunos mecanismos de transporte a través de las membranas biológicas.

1.6.7. *Proteínas de diverso tamaño molecular en el Líquido Amniótico:
Microproteínas, Mesoproteínas y Macroproteínas.*

Revisando la literatura es de destacar el estudio sobre «microproteínas» en L.A., publicado en 1987 y cuyas aportaciones son muy importantes. Nos estamos refiriendo al trabajo de BURGHARD y cols¹⁶⁶, en el que concluye afirmando que la excrección urinaria fetal es el mayor determinante e indicador del contenido de microproteínas en el líquido amniótico; y que estas microproteínas son expresión, inversamente proporcional, de la capacidad de reabsorción tubular, demostrando un rápido incremento después del segundo trimestre de gestación, para luego decrecer, progresivamente, hasta cifras del orden de 2, 4 mg/l.

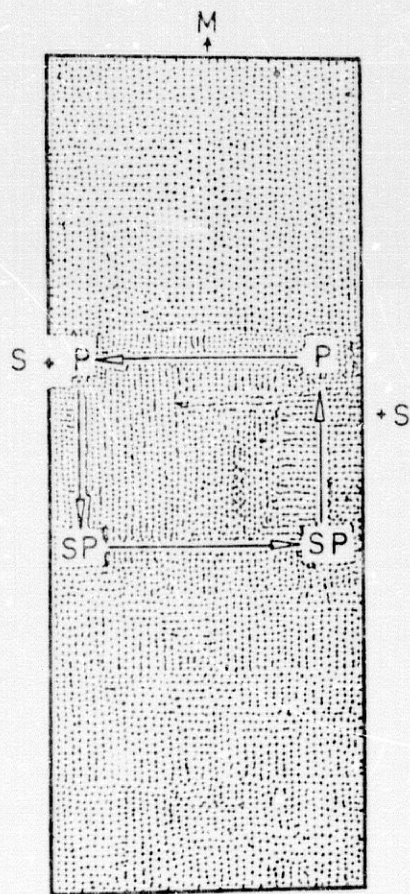


Fig. 12. Esquema de la difusión facilitada con un portador

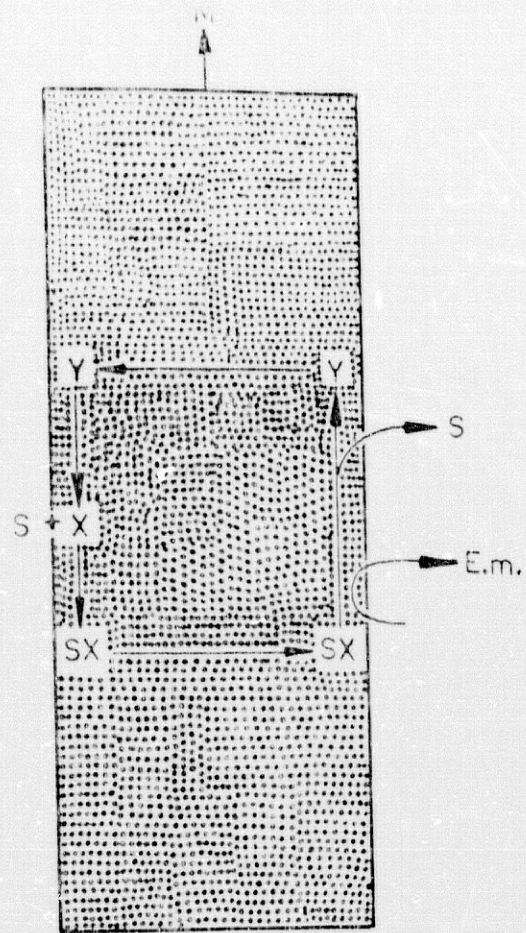


Fig. 13. Esquema de transporte activo

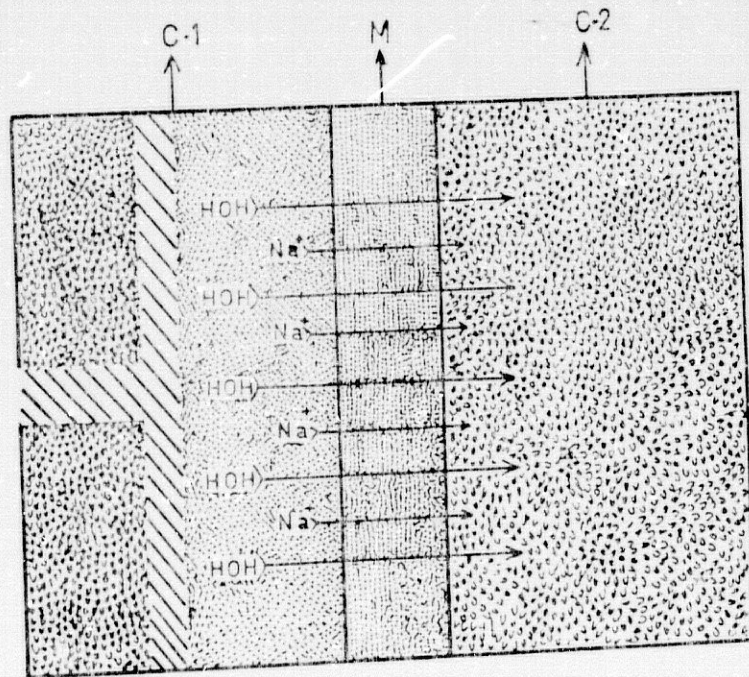


Fig. 14. Esquema de un flujo en masa o ultrafiltración

Siguiendo con las aportaciones de los autores citados¹⁶⁶, en el párrafo anterior, se menciona una conclusión importante, y que coincide con uno de los aspectos de la hipótesis de trabajo, en el sentido de concluir: que la concentración de microproteínas, encontradas en la primera orina postnatal en 73 neonatos prematuros o a término, fue similar a la hallada en el líquido amniótico de la correspondiente edad gestacional. Este es un hecho trascendental para este estudio, ya que esclarece la duda sobre la posibilidad de extrapolación del estudio del líquido amniótico como equivalente, a «grosso modo», de la orina fetal, en la segunda mitad de la gestación. En un trabajo nuestro sobre la «selectividad de la proteinuria» en las primeras micciones del recién nacido, en 1986, se aportaban resultados semejantes, pero aplicados a nivel glomerular¹⁶⁷; con este trabajo iniciábamos la línea de estudio de la madurez renal fetal, bajo la óptica del manejo de índices de excreción de proteínas etc., en la orina del neonato, o, lo que es lo mismo, en el líquido amniótico, cuyo componente principal es la orina fetal.

Pocos trabajos, de los múltiples estudios de proteínas del líquido amniótico, se encuentran, a excepción del mencionado de BURGHARD y cols¹⁶⁶, que lo estudien bajo el aspecto de la determinación de las proteínas individuales o globales, según su tamaño molecular, y su relación con el grado de madurez renal, sea glomerular o tubular. No obstante, existen múltiples estudios, que aportan datos en relación con las proteínas amnióticas y su significación en la patología fetal; así, está el estudio de la concentración de la alfa-fetoproteína en el diagnóstico prenatal de la espina bífida^{168, 169}.

Es abundante la literatura sobre la determinación de alfa fetoproteína, y se refieren, tanto a la concentración en L.A., como al suero materno, existiendo gran experiencia acumulada, que la ha hecho acreedora de ser incorporada como prueba complementaria diagnóstica, para la detección prenatal de defectos del tubo neural, etc.^{168, 169}. En la figura 15, tomada con modificaciones de AVIÑO¹⁴³, se expresa la concentración en L.A. de alfafetoproteína y la edad gestacional.

Los estudios del manejo renal de la beta-2 microglobulina (B₂M) por el neonato han aportado algunos datos de interés. ENGLE y cols¹⁷⁰ sugieren que este manejo renal está influenciado no sólo por la edad concepcional, si no por variables fisiológicas y que el equilibrio glomerulo-tubular para la beta-2 microglobulina ocurre en el riñón fetal humano después de la 34 semanas de edad concepcional; TAKIEDDINE y cols¹⁷¹ concluyen con su trabajo que el descenso de la concentración B₂M en L.A. está alrededor de una edad gestacional de 36 semanas, reflejando con ello un aumento de la reabsorción tubular proximal de B₂M, como indicador de maduración renal del feto.

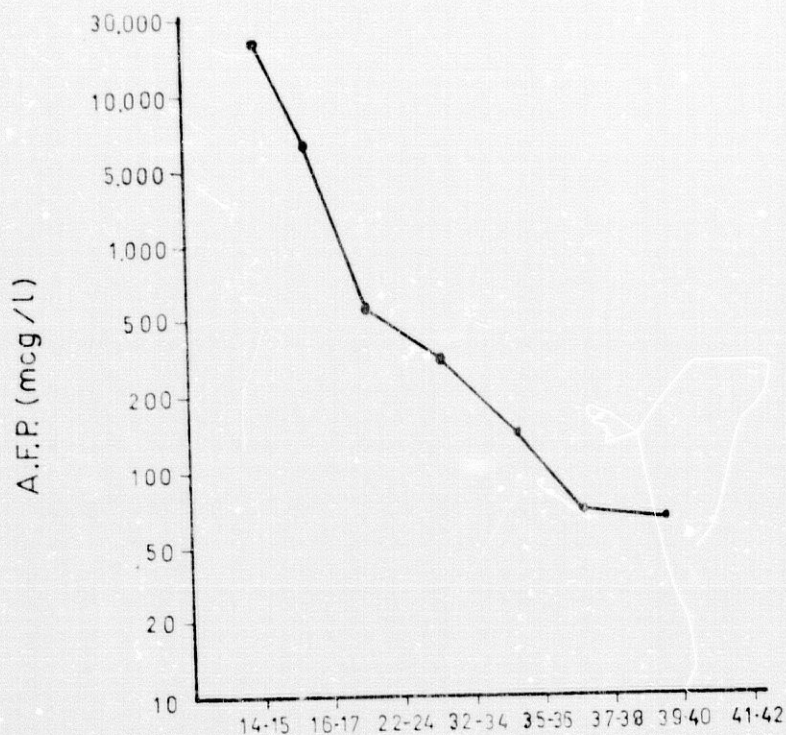


Fig. 15. Semanas de gestación y concentración de alfa fetoproteína

POULAKKA y cols¹⁷², han correlacionado parcialmente la beta-2-microglobulina en L.A. con índices de maduración pulmonar, medidos por el cociente L/E, con la concentración de creatinina, como indicador de maduración glomerular; y también lo correlacionaron con la edad gestacional, llegando a concluir que la B₂M en L.A. presenta escaso valor, como indicador de la edad del feto, pero sí aparece como un buen parámetro de maduración renal fetal. Véase figura 16, tomada de POULAKKA¹⁷² con modificaciones, donde se relaciona la concentración amniótica de B₂M y edad gestacional.

El trabajo de VESCE y cols¹⁷³, abunda más en el tema y determinan la concentración de B₂M en L.A. objetivando que su descenso ocurre, usualmente, a partir de la 35 semanas de gestación, y la cuantía de dicha concentración la sitúa en menos de 5 microgramos/l, con un simultáneo valor de cociente L/E de menos de 2, con lo cual correlaciona dos indicadores uno de maduración renal y el otro pulmonar.

En lo que respecta a otras proteínas específicas, seleccionadas en función de su tamaño molecular, o sea, microproteínas y macroproteínas, la situación bibliográfica refleja escasez de estudios, no obstante en lo que respecta a las macroproteínas es preciso destacar el trabajo de PANRUCKER y cols¹⁷⁴, quien determina la concentración de alfa-2-macroglobulina en el L.A. de los fetos de rata, encontrando una cantidad mínima, como reflejo de la escasa permeabilidad o «impermeabilidad relativa» de las membranas glomerulares del riñón del feto para el paso de dichas macroproteínas.

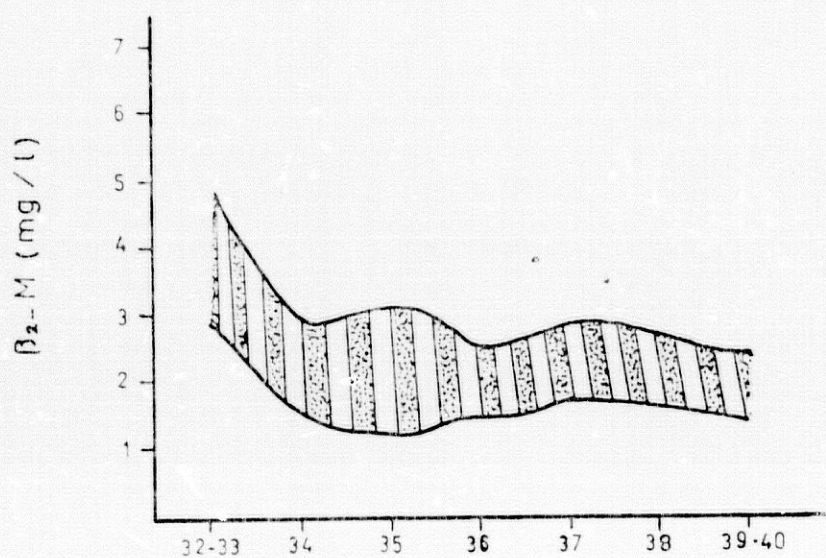


Fig. 16. Semanas de gestación y concentración de B₂M en L.A.

En patología humana, para el diagnóstico de los defectos del tubo neural, hay aportaciones de bastante interés, como el trabajo de BROCK¹⁶⁸, en el sentido de obtener cifras concretas, tanto en controles como en patología neurológica (espina bífida, anécefalia). Los autores mencionados encuentran un rango de concentración de alfa-2-macroglobulina en L.A. de 1, 3 a 50 mcg/ml (equivalente a 50000 mcg/l), para los defectos del tubo neural; asimismo hallan menos de 1 mcg/ml (equivalente a menos de 1000 mcg/l) para los fetos normales. Posteriormente, se detallan en el capítulo de resultados los valores encontrados, donde se observa cifras similares para los fetos normales, que son los que representan máximo interés para los estudios. La expresión en unidades de concentración, referidas a ur. litro, es la que se utilizan en este estudio, por estar de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades, que así lo recomienda¹⁷⁵.

Referente a las determinaciones de «microproteínas» en L.A., como posibles indicadores de la capacidad de reabsorción tubular proximal del feto y su maduración correspondiente, el trabajo de BURGHARD y cols¹⁶⁶, es bastante rico en aportaciones y similitudes a la línea de investigación de este trabajo. Estos autores observan que las «microproteínas» y su presencia en el L.A. parecen reflejar el manejo tubular renal del feto para dichas moléculas proteicas pequeñas. Cuando el túbulo madura deben ser recuperadas mediante la reabsorción de las mismas. En el tercer trimestre, o mejor dicho, a partir de la 24 semana de gestación ocurre un rápido incremento de la reabsorción tubular proximal para dichas proteínas. Los datos precisos que aporta el trabajo de los autores mencionados son: 1) Alfa-1-microglobulina, 28,4-34,5 mg/l, a partir del segundo trimestre, descendiendo progresivamente hasta cifras de 14,10 mg/l, en el «feto a término». 2) Beta-2-microglobulina presenta cifras de 7, 2-11, 6 mg/l, durante el segundo trimestre de la gestación, y descenso progresivo hasta 2,4 mg/l en el «feto a término»¹⁶⁶.

Los autores mencionados en el párrafo anterior aportan un nuevo indicador del desarrollo madurativo de la función renal fetal: determinan la concentración de proteínas de bajo peso molecular, mediante electroforesis en gel, separando proteínas de peso molecular menor que la albumina, o sea, «microproteínas» globalmente determinadas y no de forma individualizada; así como la separación de aquellas proteínas de peso molecular superior a la albúmina, o «macroproteínas» globalmente determinadas. Tras esta experiencia, los autores objetivan, mediante el método citado, una concentración de proteínas de bajo peso molecular o «microproteínas» en L.A. con valores de 0, 15-0,22 g/l, para el segundo trimestre de gestación; con disminución progresiva, en el «feto a término» de 0,03 g/l. Respecto a las proteínas de alto peso molecular, sólo determinan dichas moléculas de forma global, por el mencionado método, pero no aportan la determinación individualizada de alguna proteína de alto peso molecular o «macroproteína» que, en este trabajo se considera fundamental para poder determinar el grado de «impermeabilidad relativa» de las membranas glomerulares fetales a su paso.

Respecto a la concentración de albúmina y de proteínas de alto peso molecular, sí es preciso destacar el análisis comparativo de la determinación en la orina post-natal con la concentración del fluido amniótico. Así se observa que, los autores relacionados en párrafo anterior¹⁶⁶, obtienen cifras porcentuales de un 5% o superior para la albúmina, comparada con la concentración de dicha molécula en L.A., y un porcentaje superior al 15% de proteínas de alto peso molecular en orina, comparada con la concentración en el L.A.

Todas las aportaciones de los citados autores¹⁶⁶ no solo fueron determinadas como meras concentraciones de las proteínas correspondientes, si no que las tendencias de dichas concentraciones, a lo largo de la gestación, fueron confirmadas, también, mediante los cocientes o índices de la proteína correspondiente, con relación a la creatinina del L.A.; parámetro funcional que, en este estudio, se le da una importancia considerable en tanto en cuanto la relación de cualquier sustancia con la creatinina nos corrige la cuantía de concentración o dilución del fluido correspondiente, al ser la creatinina una molécula marcadora de la filtración glomerular^{166, 157}. No obstante la concentración amniótica de creatinina, por sí sola, es en parte un indicador de maduración renal fetal, como puede objetivarse en la figura 17, tomada de BONILLA⁷⁸ con modificaciones.

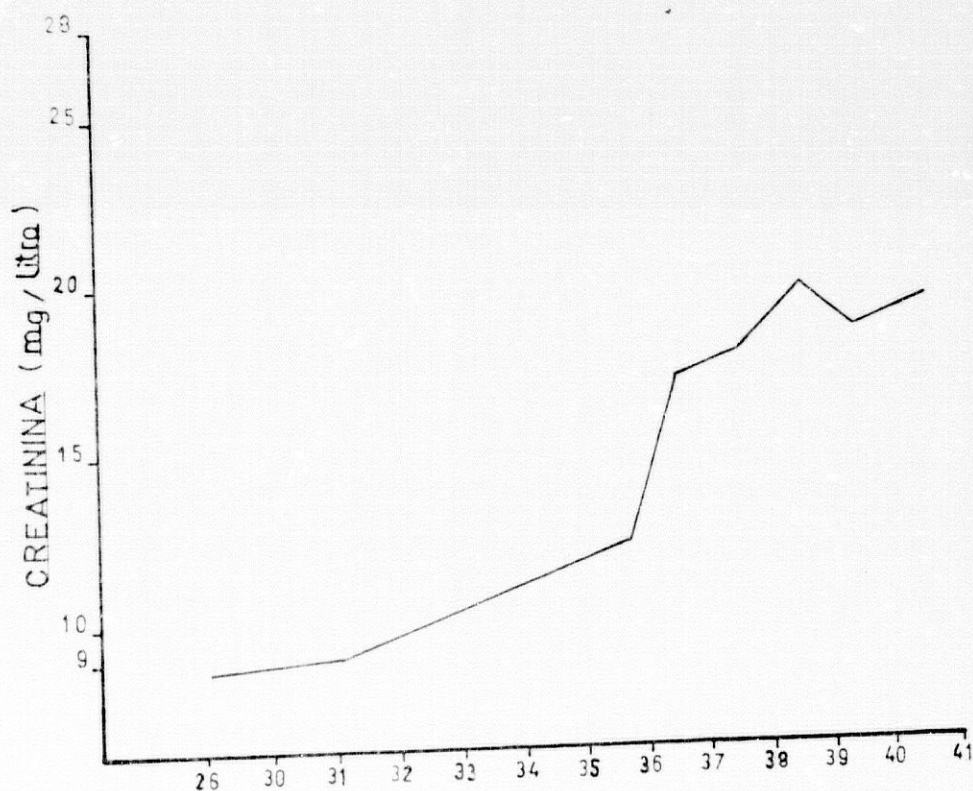


Fig. 17. Semanas de gestación y concentración de creatinina en L.A.

1.7. EL RIÑÓN FETAL: CONSIDERACIONES ANATOMO-FUNCIONALES

1.7.1. Embriología renal

La procedencia del aparato urinario es a partir del mesoblasto, que se forma del amnios y del endodermo. Los tegumentos y tejidos nerviosos se originan a partir del ectoblasto. El aparato respiratorio y digestivo del endoblasto y de la 3ª hoja embrionaria, o sea, el mesoblasto, surgen el esqueleto, los músculos, el aparato circulatorio, el aparato renal, etc. La cavidad amniótica se hipertrofia en cuanto a volumen, en la cuarta semana. En la octava semana del desarrollo desaparece el celoma externo al unirse el amnios y el corion.

El aparato urinario o renal se origina a partir de la parte central del mesoblasto, o sea, mesoblasto intermedio o nefrotoma. Este origina el cordón nefrogénico, pasando por las conocidas fases: Pronefos, Mesonefros y Metanefros.

El Pronefos, desaparece al final de la cuarta semana, y sus nefrotomas se transforman en vesículas, atrofiándose finalmente, por lo que carecen de importancia funcional.

Los nefrotomas del Mesonefros, evolucionan hacia vesículas en forma de túbulos que se unen a un canal colector, conducto de WOLFF, para acabar desembocando en la llamada cloaca. El mesonefros desaparece en la octava semana. Al terminar este segundo mes (8ª semana) se produce el inicio de la regresión del cuerpo de WOLFF, integrándose los tubos mesonéficos en las vías excretoras genitales.

En la 5ª semana inicia su desarrollo el Metanefros, que dará origen al riñón definitivo. Se trata de una masa no segmentada que entra en fase activa de diferenciación bajo el estímulo de la yema ureteral. Este divertículo ureteral se convierte, posteriormente, en conducto, que se subdivide formando los cálices y otras divisiones dan origen a los túbulos colectores, La yema ureteral origina todo el sistema excretor del riñón: tubos colectores, calices, pelvis y ureteres^{176,177,1178}. En las figuras 18,19,20, tomadas con modificaciones de SOLE-BALCELS¹⁷⁸ se ilustran los fenómenos citados de la embriología renal.

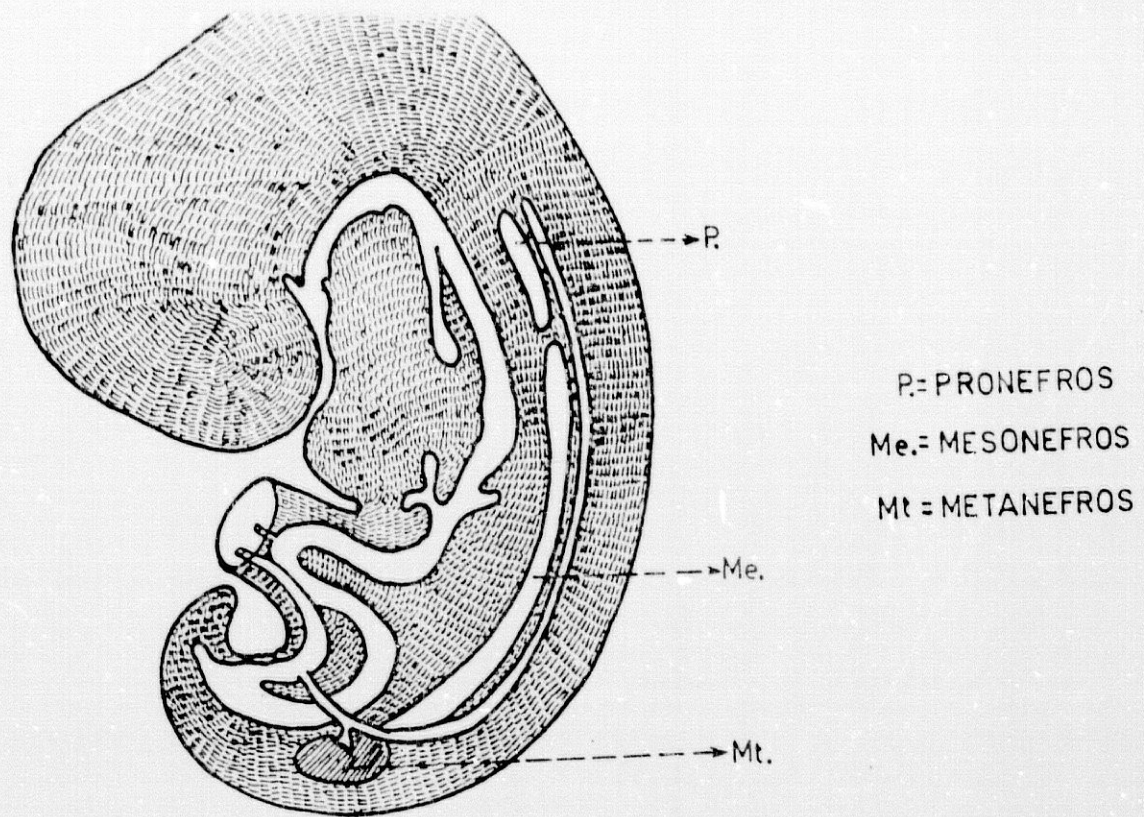


Fig.18. Embriología Renal. Pronefros. Mesonefros. Metanefros.

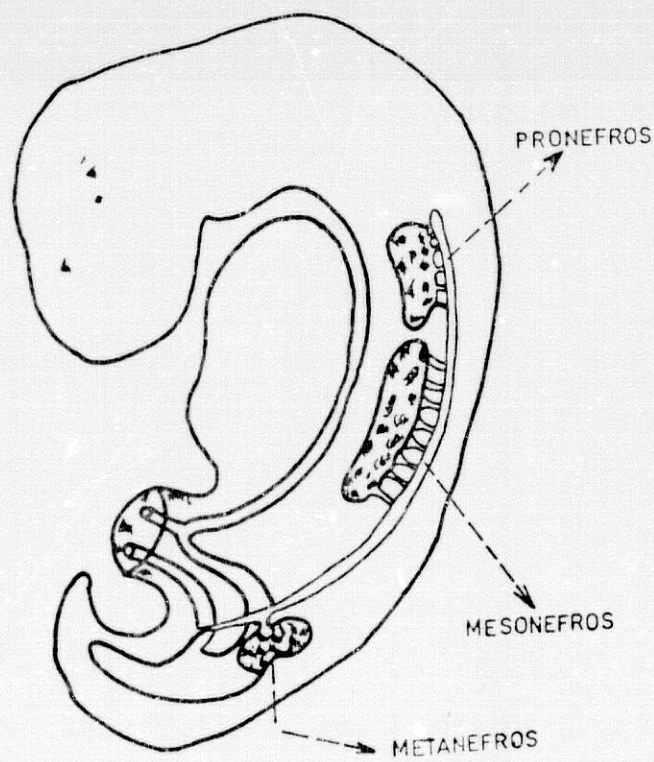


Fig.19. Embriología renal. Evolución del Pronefros, Mesonefros y Metanefros.

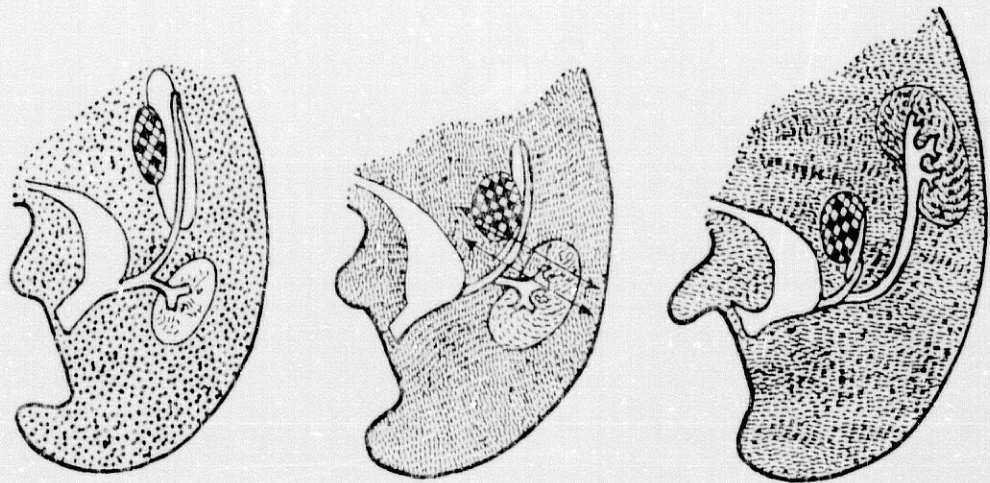


Fig. 20. Etapas de la evolución del mesonefros y metanefros

Los túbulos se alargan y se abren en el tubo excretor, formándose el glomérulo, el túbulo proximal, el asa de HENLE y el túbulo distal, que se unen finalmente al túbulo colector que se formó a partir de divertículo ureteral¹⁷⁸.

Vamos a enumerar las distintas fases en el desarrollo embrionario de las nefronas:

1.- *Periodo primario* (de la semana 5^a a la 15^a). Apartir de la rama de los túbulos colectores se originan las nefronas, desapareciendo la mayoría y persistiendo solo las situadas en los extremos de los túbulos colectores.

2.- *Periodo secundario* (de la 5^a-22^a semanas). En este periodo no se produce ninguna división de los túbulos colectores, pero sí se forman nuevas nefronas que forman arca-das.

3.- *Periodo terciario* (22^a-36^a semanas). La parte distal de los túbulos colectores se alargan y ramifican, e inducen la aparición de varias nefronas nuevas.

4.- *Periodo cuaternario* (36ª semanas en adelante). En esta fase nos encontramos en un periodo definitivo. A cada tubo colector drenan de 10 a 14 nefronas; unas de tipo cortical y otras yuxtamedulares. Las corticales tienen asa de HENLE corta y las yuxtamedulares muy largas, llegando incluso hasta la papila.

Al nacer la formación de glomérulos se ha completado, en cuanto al número de los mismos; no obstante, el tamaño sigue progresivamente aumentando con la edad, desde un diámetro de 0,12 mm. en el R.N. hasta 0,29 mm. en el adulto.

En la 5ª semana aparece la yema ureteral, que nace del conducto de WOLFF. Al evolucionar el desarrollo de la pared posterior del seno urogenital se produce desplazamiento de los orificios ureterales, que forman una especie de triángulo entre los meatos y la desembocadura del conducto de WOLFF, que es lo que llamamos triángulo vesical. El seno urogenital origina en el varón la vejiga y la mitad superior de uretra prostática; en cambio, en la mujer forma la vejiga y toda la uretra^{175,178}.

La evolución del aparato urinario está vinculada a la formación del aparato genital. En la pared alantoides se forman los gonocitos, emigrando a la 5ª semana por el mesenterio, llegando a la región lumbar, que proporciona las células nutritivas. Los cordones sexuales son formados a partir de las crestas genitales. En el hombre la unión se realiza entre la rete testis y los antiguos tubos mesonéfricos y se continúan con el conducto de WOLFF, que forma las vías genitales masculinas (epidídimo deferente, vesícula seminal). En la hembra, la unión entre la rete del ovario y los tubos mesonéfricos con el conducto de WOLFF, desaparece, persistiendo solamente el denominado órgano de ROSENMULLER^{179,180,181}.

Tanto la evolución renal fetal como la nefrogénesis se ilustran en las figuras 21 y 22, tomadas de SOLE-BALCELLI¹⁷² con amplias modificaciones.

1.7.2. Homeostasis fetal. La placenta

Tras veinte años, y gracias a la cirugía fetal intrauterina, se ha podido progresar en el conocimiento de la fisiología fetal, fundamentalmente en lo concerniente a la función renal y el metabolismo hidroiónico y acidobásico.

Es necesario no olvidar que la función renal fetal va, indisolublemente, unida a la función placentaria y los intercambios materno-fetales, en lo que respecta a los líquidos orgánicos. Este conocimiento de la fisiología renal fetal ha sido alcanzado gracias a los estudios efectuados en los fetos de animales, sobre todo en el cerdo y el cordero¹⁸².

Fig.21. Evolución renal fetal

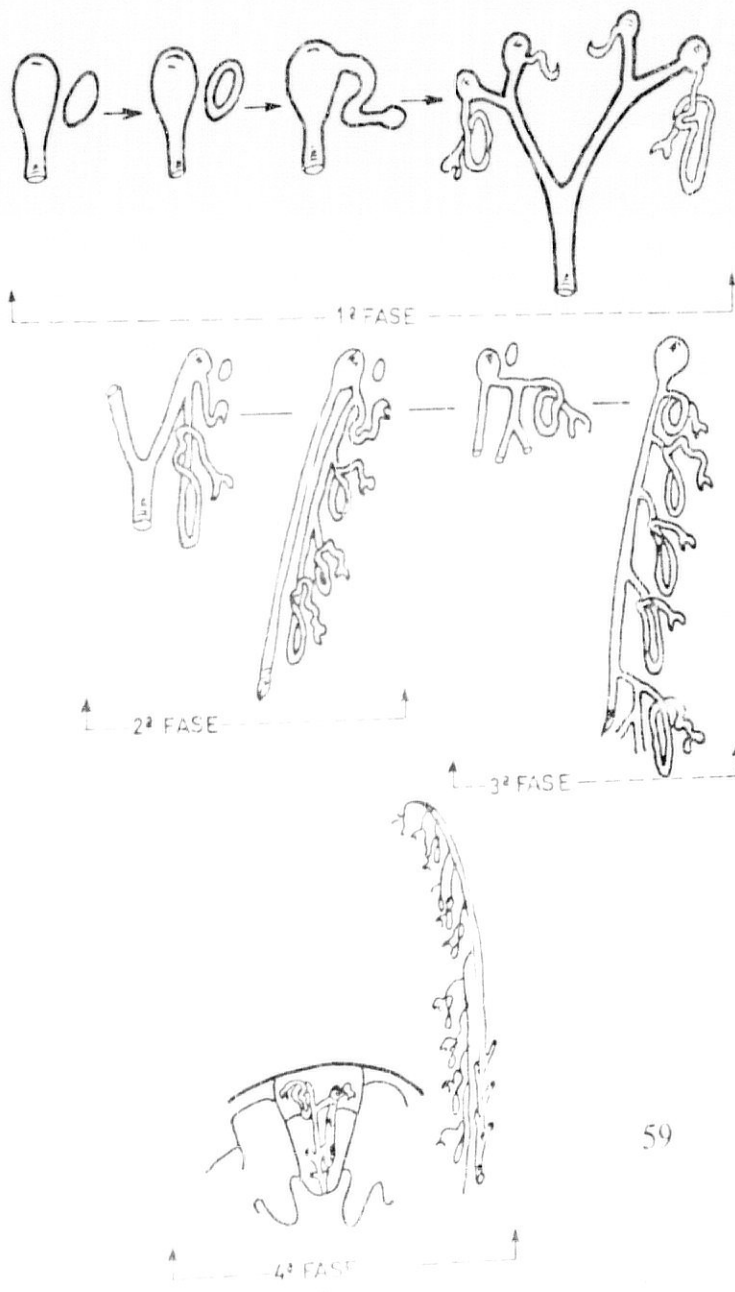
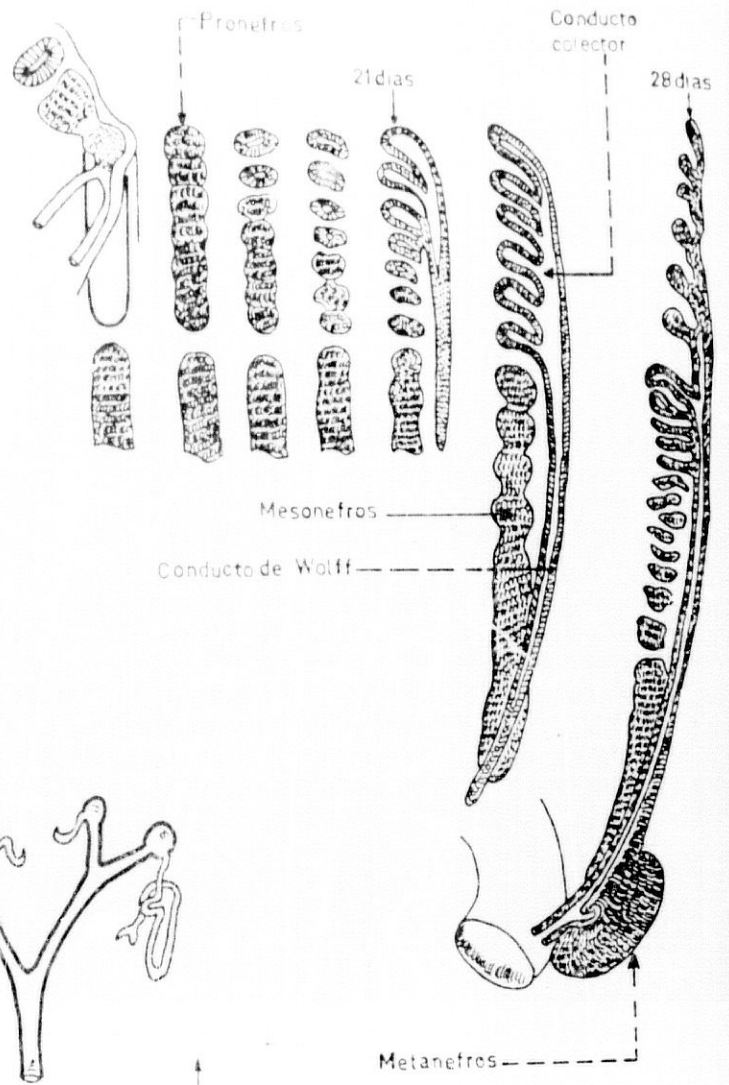


Fig.22. Nefrogenesis

Los fetos han sido estudiados intrauterinamente, en las distintas edades de la gestación, abocando la vejiga, los vasos sanguíneos, o el líquido amniótico, mediante catéteres, que, atravesando el útero materno y la pared abdominal hacia el exterior, han podido analizar diferentes parámetros¹⁸². Los parámetros fundamentales que se han estudiado, son:

- 1.- El equilibrio hidroiónico y ácido-básico fetal.
- 2.- El intercambio de líquido materno-fetal transplacentario.
- 3.- La progresiva maduración renal hasta el nacimiento.
- 4.- La función predominante de la placenta en la regulación de la homeostasis del feto^{182,183,184,185,186}.

El equilibrio hidroiónico y ácido-básico fetal

El 95% del peso fetal está constituido por agua al cuarto mes de gestación; este porcentaje disminuye progresivamente hasta el 75% en el feto a "término". Esta reducción porcentual es a costa del sector extracelular.

El feto alcanza una osmolaridad sanguínea muy similar a la de la madre; e igualmente ocurre con el nivel sérico de sodio y cloro. El potasio sérico fetal está ligeramente aumentado en relación al suero materno y la fosforemia muy elevada en el mismo sentido.

El nivel sérico de las proteínas totales es muy bajo, dado que la transferencia placentaria de las proteínas maternas hacia el feto es, en muy pequeña cuantía, y al mismo tiempo, el feto presenta escasa capacidad de síntesis endógena proteica.

El pH de la sangre fetal es algo bajo, a las 32 semanas de gestación es próximo a 7,36, frente a la madre que presenta un Ph sanguíneo de 7,43. Es obvio, que el feto presenta tendencia moderada a la acidosis mixta, sin embargo tomados en su globalidad tanto el equilibrio ácido-básico como hidroelectrolítico presenta valores muy próximos a los de la madre y, está estrechamente relacionados con los intercambios líquidos materno-fetales y de membranas¹⁸².

El intercambio de líquidos materno-fetal transplacentario

La unidad fetal, amniótica y placentaria son tres estructuras interrelacionadas, donde tienen lugar transferencias constantes de agua y electrolitos. Los intercambios líquidos

son importantes, cuantitativamente; del orden de 3,7 l/h., tiene lugar como flujo entre el feto y madre al final de la gestación; entre el líquido amniótico y la madre se establece un débito de 250 ml/h. y entre el feto y el líquido amniótico 150 ml/h.¹⁸²

Estos intercambios, citados en el párrafo anterior, tienen lugar a nivel de la placenta, según los diferentes tipos de transportes biológicos: difusión pasiva, difusión facilitada, transporte activo, ultrafiltración de las sustancias disueltas y pinocitosis (posiblemente). Una sustancia concreta podría seguir y utilizar varios tipos de transferencias. El transporte de agua es un misterio; se ha invocado la explicación de variaciones de la osmolaridad en pequeña escala, así como de la presión hidrostática fetal, también en pequeña cuantía. Los electrolitos se transferirían por ultrafiltración (fundamentalmente, el cloro y el sodio) o por transporte activo (calcio y potasio)^{182,183}.

La incógnita es aún más profunda en lo referente a la regulación de los mencionados intercambios materno-fetales; hasta el presente no hay una explicación totalmente convincente.

Los movimientos de agua intrafetales son enormes, como pueden ser atestiguados en los fetos humanos "a término", ya que la cuantía de líquido ingerido es de 7-10 ml/kg/h, y la cuantía de la orina emitida del orden de 7 ml/kg/h^{182,184}.

Desarrollo renal fetal

Es sabido que el metanefros hace su aparición hacia la 5ª semana de gestación, pero solo alcanza capacidad funcional hacia la 9ª-10ª semanas.

El feto de 5 meses tiene ya un 30% de glomérulos maduros, y el metanefros se empieza a especializar en su doble función glomerular y tubular hasta la 32 semana. Simultáneamente, es preciso el desarrollo de una vía excretora necesaria para el desarrollo integral del aparato urinario^{182,185}.

Es, precisamente, con la aparición de la emisión urinaria fetal, a través de la uretra, cuando tiene lugar un cambio significativo en la cantidad y composición del líquido amniótico. Se produce una disminución de la osmolaridad y de la concentración de sodio, cloro y potasio; simultáneamente, hay una elevación de la concentración ureica amniótica, así como de la creatinina y de los amionocidos del mencionado líquido. En lo que se refiere a los aspectos cuantitativos, la orina fetal interviene en el mantenimiento del volumen amniótico, como se demuestra con la existencia de oligoamnios en las agenesias renales bilaterales^{182,184,185}.

El flujo urinario fetal experimenta variaciones a lo largo de la gestación, así, cuando aumenta la función de concentración del riñón, se produce una disminución en el volumen del mencionado flujo urinario: 1,9 ml/min/kg. a los 2 meses en el feto de oveja; 0,04 ml/min/kg. a los 5 meses y medio de gestación; y 0,02 ml/min/kg, en el animal adulto^{182,184,185}.

La función renal fetal ha sido estudiada en sus distintos tramos de la nefrona, y así, enumeraremos los distintos aspectos funcionales.

Función glomerular

El flujo por minuto de filtración experimenta un incremento progresivo hasta la mitad de la gestación; posteriormente, sufre una disminución con relación al filtrado de la primera mitad de la vida intrauterina. Así, en los fetos de oveja se ha podido medir los siguientes filtrados glomerulares: 0,4 ml/min/kg como filtrado glomerular hallado a los dos meses de gestación; 2,4 ml/min/kg a los 2 meses y medio de embarazo; y 0,4 ml/min/kg, al quinto mes aproximadamente de vida intrauterina¹⁸².

El flujo sanguíneo renal también experimenta una evolución, en el siguiente sentido:

El aclaramiento de PAH, en los fetos de oveja, alcanza la cifra de 0,5-1,3 ml/min/kg, entre el tercer y quinto mes de gestación. Si recordamos que el animal adulto presenta un flujo sanguíneo renal del orden de 10-16 ml/min/kg, observamos que el flujo sanguíneo renal del feto, es bastante bajo. La explicación de esta hipoperfusión renal fetal se justifica por: la existencia de una alta resistencia de las arteriolas renales, y, simultáneamente, una presión arterial sistémica del feto bastante baja (70-80 mmHg).

La perfusión renal fetal es máxima a nivel de la médula; parece ser que, las variaciones de este filtrado glomerular fetal, sea debido a la secreción de renina y de catecolaminas, que disminuirían el flujo sanguíneo cortical mucho más que el medular; a la 15 semana en fetos humanos, ha sido hallada secreción de las células del aparato yuxtaglomerular, y es así mismo conocido el fenómeno de la presencia de una actividad renina circulante mucho mayor en el feto que en la madre^{182,183,18}.

En la figura 23, tomada de ROBILLARD¹⁸⁷ con modificaciones amplias, se aprecia las relaciones de la edad gestacional y filtrado glomerular.

Función tubular

Hacia la 15 semana el feto humano presenta ya una asa de HENLE funcionando. Se ha demostrado, experimentalmente, que, la célula tubular en cultivo, experimenta un transporte de rojo fenol hacia la luz del tubulo, y en la misma línea de experimentación se ha comprobado que la glucosa está ausente en la orina fetal del cerdo. Estos fenómenos vienen a demostrar que el feto pequeño del animal (cerdo) es capaz de concentrar, reabsorber y secretar las sustancias correspondientes¹⁸².

Un fenómeno muy interesante ha sido también comprobado en el feto de oveja de dos meses de edad intrauterina: es capaz de reabsorber el 60% del sodio y, el feto "a término", el 90%; simultáneamente, en la observación precedente, se comprobó que esta baja natriuresis era acompañada de una kaliuresis aumentada¹⁸².

Si se observan los mecanismos de control y regulación de la reabsorción electrolítica y la concentración urinaria, se concluye, que aún permanece oscuro el conocimiento claro de dicho fenómeno. No obstante, es sabido, que tanto los osmorreceptores como los volu-receptores tienen actividad hacia el final de la vida intrauterina. La hormona antidiurética presenta una función muy discutible; los corticoides suprarrenales son desconocidos en su funcionalismo en el feto, sin embargo se han demostrado modificaciones importantes en la relación sodio/potasio urinario ante el estrés fetal¹⁸².

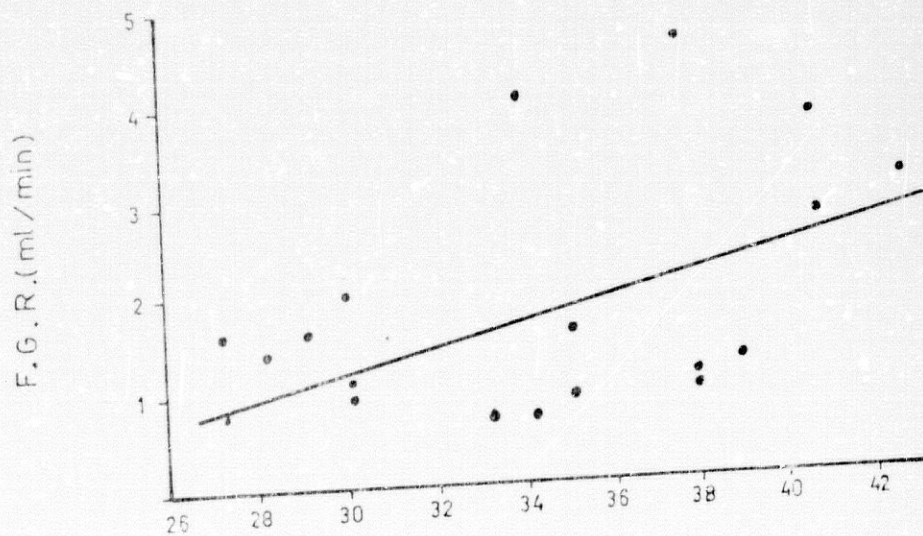


Fig. 23. E. gestacional y filtrado glomerular

La urea, el nitrógeno total y la creatinina, cuantificadas en la orina de los fetos de oveja, experimentan un incremento a lo largo de la vida intrauterina. La urea urinaria fetal de dichos animales es la siguiente: al tercer mes aproximado de gestación alcanza la cifra de 1,02 g/l.; al cuarto mes 1,23 g/l.; al quinto mes aproximadamente 2,87 g/l. La creatinina urinaria fetal de los mencionados fetos experimenta la siguiente evolución: al tercer mes tiene ya una concentración urinaria de 0,3 mg/l.; al cuarto mes 0,6 mg/l. y al quinto 2,7 mg/l.¹⁸².

Aspectos importantes de las funciones tubulares y de la nefrogénesis se pueden apreciar en la figura 24 tomada de GUIGNARD con modificaciones¹⁸⁸ y en la figura 25 y 26 tomadas de ROBILLARD¹⁸⁷ con modificaciones amplias.

La placenta como órgano de regulación de la homeostasis fetal

Es clásico el estudio que demuestra que los fetos anéfricos no experimentan ningún trastorno hidroelectrolítico o ácido-básico importante, como expresión de la gran capacidad de eliminación de residuos metabólicos que tiene la placenta.

La superficie de intercambio placentaria en el feto humano a "término" llega a alcanzar hasta 15 m². El débito sanguíneo fetal es a nivel placentario del 60%, mientras el flujo sanguíneo renal es un 3%. La placenta puede eliminar el CO₂ fetal por difusión simple y puede excretar la urea fetal a una excreción cuantitativa de 0,54 mg/min/kg., en los fetos de oveja¹⁸².

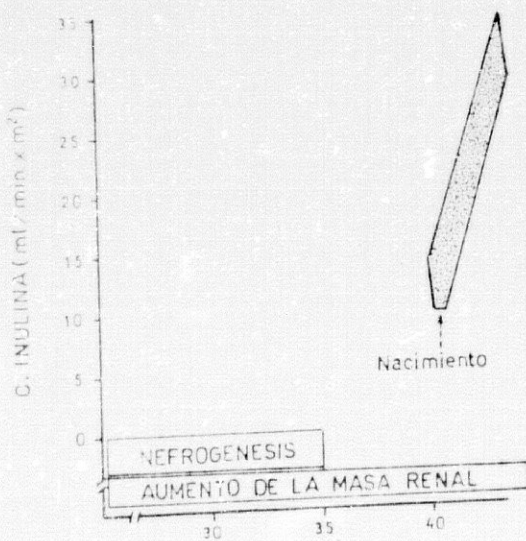


Fig.24. Edad gestacional y C. de inulina

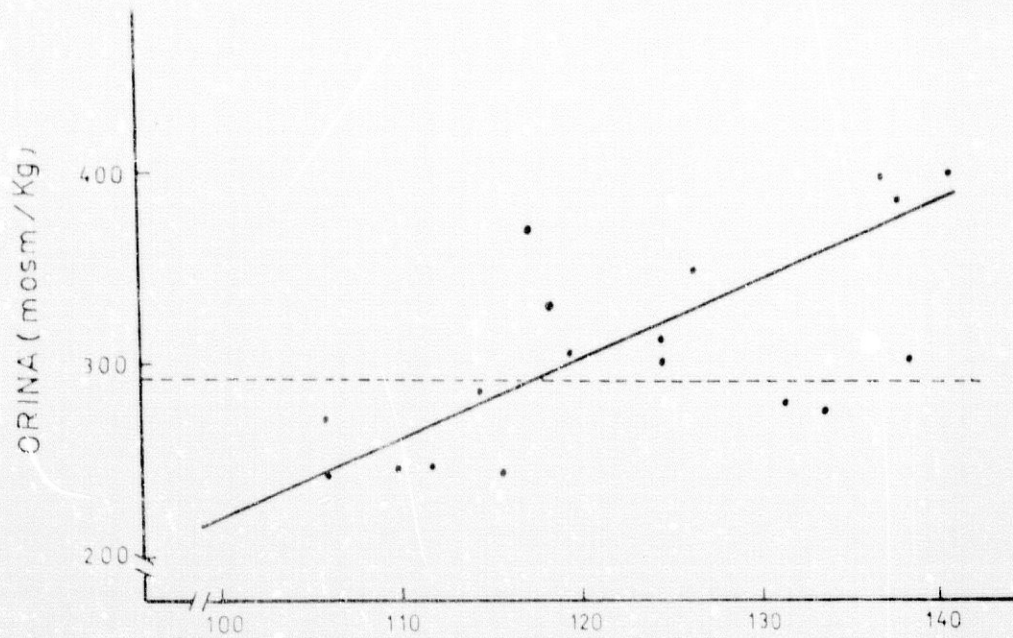


Fig.25. Edad gestacional (días) y osmolaridad urinaria del feto

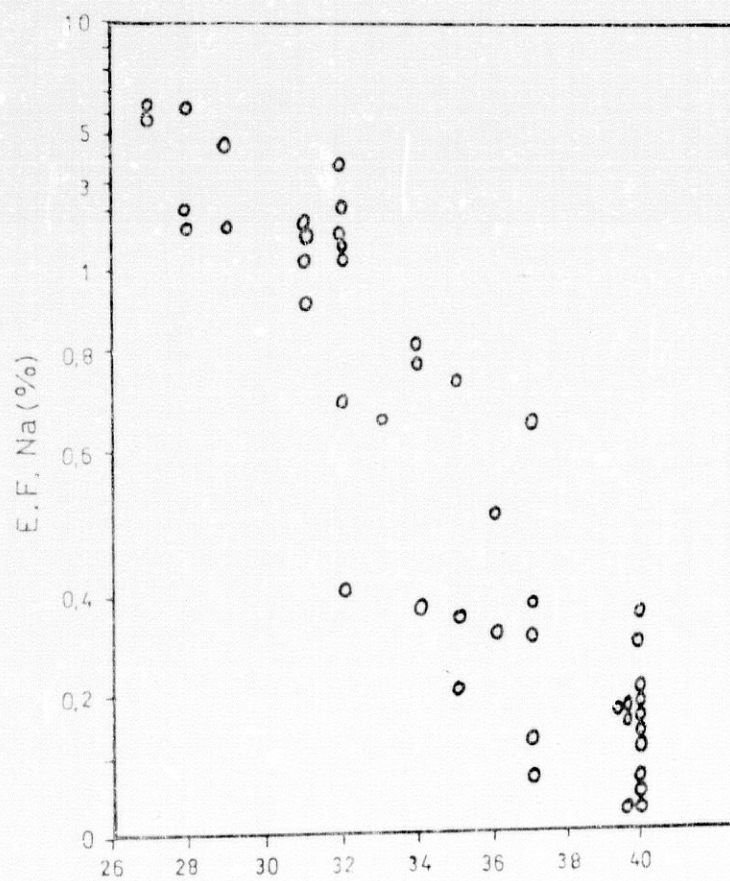


Fig.26. E. gestacional y excreción fraccionaria de sodio (%)

Todos estos fenómenos de regulación placentaria de la homeostasis son conocidos parcialmente, en tanto en cuanto los medios de control de este equilibrio no han sido todavía suficientemente estudiados. Es así conocido que, las características anatómicas de la placenta y sus capacidades funcionales, varían mucho según las especies animales, y este hecho condiciona el papel de la función renal fetal. Es interesante, en este orden de cosas citar que el feto de cerdo presenta una placenta poco eficaz relativamente, en cuanto a los intercambios; en cambio el riñón de feto de cerdo es activo en su estadio de mesonefros^{182,183,184,185,186}

Estos datos enumerados nos hacen pensar, con razón, en una conclusión importante, el riñón fetal utiliza casi toda la energía, que le es suministrada durante la gestación, para su desarrollo. Y si bien existen funciones en el tercer mes de la vida intrauterina, en lo que respecta al riñón fetal, esto no representa más que una cuantía pequeña del funcionalismo y la regulación de la homeostasis y sólo con el nacimiento se pone en marcha una intervención importante por parte del riñón en la regulación de dicha homeostasis. No obstante, no podemos hablar de una "inmadurez renal fetal absoluta", y que sólo la placenta actúe como órgano regulador de la homeostasis. El tema del papel preponderante o no del riñón fetal, sin menospreciar el desempeñado por la placenta, queda por aclarar. Se intenta con este estudio, aportar alguna luz en el conocimiento de la fisiología renal fetal, en lo que respecta a su desarrollo evolutivo y maduración, visto bajo el prisma de nuestra hipótesis de trabajo a cuyo apartado remitimos.

1.7.3. *Fisiología renal fetal: maduración funcional y líquido amniótico*

Durante la vida fetal la maduración funcional renal va paralela al desarrollo de la nefrogénesis, que ocurre de tal forma que las nefronas profundas de la corteza renal maduran en primer lugar. Antes de que haya ocurrido la culminación de la nefrogénesis se ha detectado la presencia de orina fetal; o sea, el feto humano es capaz de emitir orina en la 12ª semana de gestación, no habiéndose aún terminado la nefrogenesis, fenómeno que ocurre alrededor de la 34 semana de gestación¹⁸¹.

Se refiere en párrafos anteriores que la placenta es fundamental para el mantenimiento de la homeóstasis del feto; no obstante, el riñón fetal es capaz de producir orina, en una proporción que suponga una aportación cuantitativa y cualitativa suficientes para la generación del líquido amniótico. Los estudios realizados en fetos prematuros ya nacidos, o, bien dicho, recién nacidos prematuros de diferentes edades gestacionales, han con-

tribuido al esclarecimiento de muchos aspectos funcionales del riñón "fetal"; en este orden de cosas, se menciona que, en el periodo aproximado de la 28 y 35 semanas de gestación aparecen cambios fisiológicos renales importantes:

1. En cuanto al filtrado glomerular se ha observado un aumento progresivo de su cuantía, a partir de la 34-35 semanas de gestación, pero los cambios bruscos funcionales ocurren, obviamente, de forma más manifiesta en el periodo mencionado anteriormente. Estos cambios, en el sentido de aumento progresivo de filtrado glomerular y del flujo plasmático renal, están relacionados con el aumento de la presión arterial sistémica del feto, que ocurre en las últimas 12 semanas de gestación^{182,184,188}.
2. Los estudios realizados, acerca de las funciones tubulares no son tan concluyentes como los que se refieren al filtrado glomerular. Estos estudios han sido realizados, como se citaba en párrafos anteriores, en el feto de oveja. La capacidad de dilución urinaria está presente al encontrar una orina hipotónica; sin embargo, la capacidad de concentración urinaria no es posible, siendo incapaz de producir orina hipertónica, a pesar de la presencia de hormona antidiurética (ADH). Se ha argumentado, para explicar este defecto, que existe una insuficiente formación de adenilciclasa tubular y su repercusión en la formación del AMP, como segundo mensajero en la acción hormonal de la ADH. Siguiendo la revisión efectuada por diversos autores^{183,184,188} sobre el tema habrá que señalar que, la maduración del transporte de electrolitos, es paralela a los sistemas enzimáticos y así mismo el transporte de glucosa, fosfatos e hidrógeno están presentes en el animal fetal citado. A partir de la 35 semana existe una capacidad funcional suficiente, para adaptarse a cambios importantes en las ingestión de solutos; sin embargo el equilibrio y mantenimiento del sodio es incapaz de conseguirlo el riñón fetal antes de la edad mencionada, a pesar de existir cifras de renina y angiotensina en la circulación sanguínea en una cuantía considerable; por lo que el defecto en la homeóstasis del sodio se explicaría por insuficiencia del sistema de transporte del mismo^{182,184,185}.

Desde las ideas antiguas, que consideraban el líquido amniótico como un líquido estancado, sin dinámica ni recambio alguno, hasta la actualidad los hechos y datos sobre esta problemática han cambiado sustancialmente. Si bien, perdiéndose en la noche de los tiempos muchos autores le atribuían funciones protectoras físicas; HIPOCRATES, por el

contrario, intuyó la auténtica realidad de los hechos: el riñón fetal contribuye de forma fundamental a la formación del líquido amniótico. Hoy sabemos que el feto tiene una actividad intrauterina y es capaz de realizar respiraciones, ingerir líquido, emitir orina, etc.

La composición del líquido amniótico, en lo que respecta a sus elementos químicos es muy similar al suero materno en las primeras semanas del embarazo. Este hecho muchos autores⁶, lo consideran como una transudación, debido a la alta permeabilidad de las membranas fetales en estas etapas temprana de la vida intrauterina. Hasta la 17-20 semanas de gestación la composición del líquido amniótico permanece casi inalterable y LIND y otros⁶ consideran que este líquido amniótico, en este periodo fetal, es un equivalente del espacio extracelular.

La composición del líquido amniótico comienza a adquirir un cariz específico propio a partir de la 20 semana de vida intrauterina. Los riñones fetales adquieren una presencia no sólo estructural, sino funcional, y una función definida en la cuantía y composición del líquido amniótico; a medida que aumenta la vida fetal el líquido amniótico refleja cada vez más los procesos metabólicos fetales. No se debe olvidar que otros órganos intervienen, como factores de formación y cambio del líquido amniótico: tubo digestivo, conducto nasofaríngeo, etc^{6,7}.

Se puede concluir, revisando la literatura sobre el tema que el feto humano es capaz de emitir orina desde edades tempranas de la vida intrauterina, y es en la segunda mitad de la gestación cuando la contribución del riñón fetal se hace de forma clara y manifiesta. Se puede afirmar que la cantidad de orina emitida y su contribución al líquido amniótico es progresiva y va expresando una composición cada vez más compleja y definida, a medida que la gestación progresa. Dos hechos explican esta afirmación:

1. Cuando ha llegado el feto a "término" el líquido amniótico es hipotónico, si se le compara con el suero materno, a pesar de la intervención activa de la placenta para eliminar esta diferencia, con su consabida capacidad homeostática fetal.

Ello es un indicador de que la excrección urinaria fetal es una aportación importante, en estas etapas de la vida intrauterina^{6,7,183,184}.

2. Otro dato confirmativo de la afirmación mencionada más arriba es la presencia de una concentración de urea y de las sustancias nitrogenadas, en una cuantía que aumenta, al mismo ritmo que avanza la gestación; lo que explica el aumento progresivo y paralelo del riñón fetal, que va madurando y adquiriendo la capacidad de concentración urinaria^{6,7,183}.

La bibliografía es muy pródiga en afirmaciones sobre la función renal fetal, expresadas a través del estudio de la composición del líquido amniótico, pero, siempre, en lo que se refiere a la eliminación-concentración etc. de sustancias «micromoleculares»: creatinina, urea, ac. úrico, etc., y, si acaso, aportaciones varias, sobre el estudio de la composición proteica amniótica, en lo que se refiere a "macromoléculas" proteicas, vistas bajo un prisma de concentración porcentuales y globales. Sin embargo, se observa una gran escasez de estudios de eliminación y/o presencia de proteínas amnióticas "individualizadas", y expresadas sus concentraciones, en función de la excreción o presencia de marcadores glomerulares, como la creatinina amniótica, expresión paralela de la creatinina urinaria en la vida extrauterina; así mismo, pocos trabajos se encuentran, salvo la brillante aportación reciente y simultánea en el tiempo de realización con nuestros estudios, de BURGHARD y COLS¹⁶⁶, sobre «microproteínas» en líquido amniótico^{171,189,190,191,192}.

En el trabajo de J.GUIGNARD¹⁸⁸, en el que revisa de modo conciso pero completo, los datos sobre la maduración renal fetal, se afirma que la placenta es el órgano regulador fundamental del feto. Con esta afirmación se quiere implicar el que el crecimiento renal fetal no está supeditado e inducido por las necesidades funcionales. A partir de, aproximadamente, las últimas veinte semanas de gestación, se produce un progresivo aumento del peso renal, que se correlaciona con la edad gestacional, la superficie corporal fetal y el peso corporal del feto.

La nefrogénesis se consolida en la 24-25 semanas de gestación, pero la formación de orina ocurre bastante antes, aproximadamente entre la 9-12 semanas de vida intrauterina; la orina del feto es, pues, un componente básico del líquido amniótico, y existe un incremento progresivo y proporcional a la edad gestacional. Véase figura 27, basada en el trabajo de CAMPBELL¹⁰ con modificaciones.

La filtración glomerular se relaciona con el área de superficie corporal. Rápidamente ocurre un incremento importante entre la 28-35 semanas de vida intrauterina, fenómeno explicado por la maduración funcional y las nuevas nefronas que aparecen en el mencionado periodo. Es, a partir de la 35 semana de embarazo, cuando el filtrado glomerular alcanza una curva en meseta hasta el final de la gestación (fig.23), indicando un paralelo aumento del tamaño y función renal. En los últimos cinco meses de embarazo, también, ocurre una maduración acelerada de las funciones tubulares¹⁸⁸.

Acerca de la maduración de la fisiología renal, analizando la literatura al respecto, es preciso hacer las siguientes consideraciones:

1. En los mamíferos, la maduración de la capacidad de filtración renal aumenta de forma progresiva hasta concluir la nefrogénesis; el tiempo en que ocurre esta maduración es específico para cada especie de mamíferos. Así en los perros, la nefrogénesis no termina durante la vida intrauterina, sino que se consolida en la vida extrauterina, aproximadamente unas 3 semanas después del nacimiento. En los corderos, por el contrario, la nefrogénesis y la maduración fisiológica renal ocurre intrauterinamente¹⁹³.

En los fetos humanos el aumento definitivo del filtrado glomerular ocurre a partir de la 24 semana de gestación, coincidiendo con la consolidación de la nefrogénesis. Este periodo es tan evidente y significativo que, entre los recién nacidos de 25 a 33 semanas de gestación, no hay diferencia significativa entre el filtrado glomerular renal^{194,195,196}.

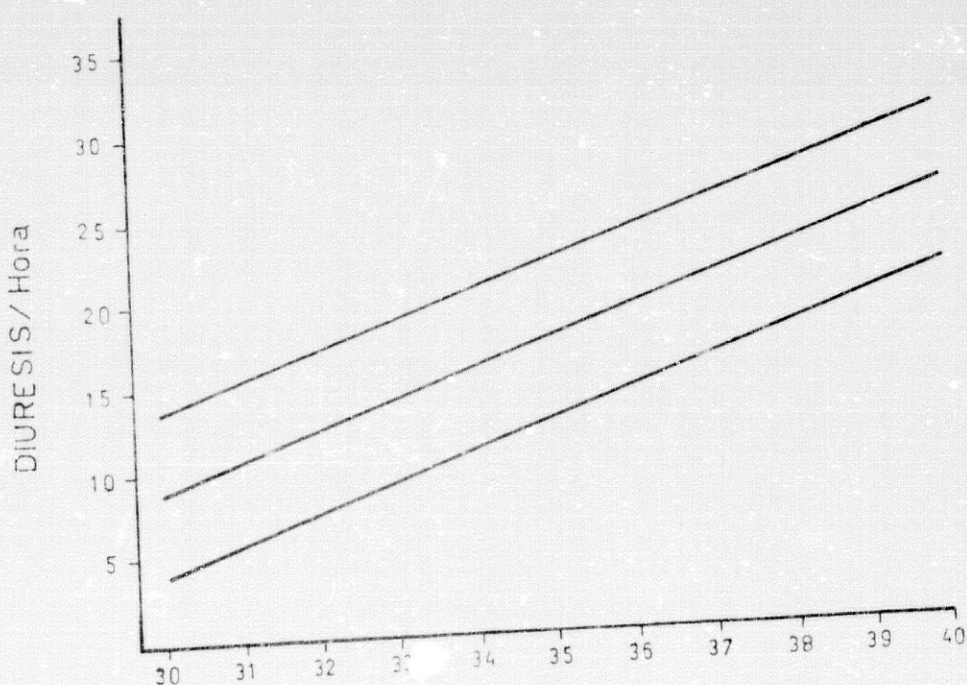


Fig.27. Edad gestacional y diuresis horaria del feto

Diversos estudios^{197,198,199,200} son concluyentes en el sentido de encontrar una relación entre el filtrado glomerular y el desarrollo, si bien, posteriormente, es influenciado por factores extrauterinos. Estas conclusiones de los mencionados trabajos fueron posibles al relacionar el aclaramiento de inulina y de urea con la edad gestacional en el momento del nacimiento, así como una relación directa entre el aclaramiento de inulina y la edad concepcional (edad gestacional más tiempo de vida postnatal).

En cuanto a las funciones tubulares, los diversos estudios²⁰¹ demuestran una desproporción entre la reabsorción y la excreción glomerular; posteriormente con la maduración renal definitiva, es superado, estableciéndose un equilibrio entre el glomérulo y el túbulo^{194,195,201}.

Algunos autores²⁰² ponen en cuestión el concepto del desequilibrio glomerulo-tubular del riñón fetal. Así, observan que la reabsorción de las microglobulinas va en aumento, a medida que progresa la edad gestacional^{195,203}. Otros autores establecen la existencia de un equilibrio glomerulotubular para la glucosa, a partir de una edad gestacional de 25 semanas.

A las múltiples influencias, a la que se ve sometida la maduración funcional renal del feto, es necesario añadir los llamados factores extrarrenales, como condicionantes de dicha maduración. Así, la maduración morfológica no es el único determinante de la función renal en la vida fetal^{196,204,205}.

El filtrado glomerular aumenta de forma paralela a como aumenta el flujo sanguíneo renal; éste, a su vez, se modifica con los cambios del gasto cardíaco y las resistencias vasculares renales. Los factores hemodinámicos controlan e influyen la función renal, pero también, indirectamente, las sustancias vasoactivas, como la vasopresina, las prostaglandinas y el eje renina-angiotensina-aldosterona; las cuales han sido puestas de manifiesto en múltiples estudios,^{206,207,208} sobre todo en el periodo neonatal, con una cuantía superior, en cuanto a concentración, a la que presentan los adultos^{209,210}.

Dentro de las sustancias vasoactivas las prostaglandinas actúan sobre la natriuresis, elevándola, pero no parece que sea por un mecanismo directo, sobre el túbulo renal o a través de la inactivación del AMP-cíclico, sino de forma indirecta^{211,212}.

Las prostaglandinas se degradan en el pulmón y no en hígado o riñón²¹³.


La prostacilina se encuentra frecuentemente en el suero fetal, habiendo sido precisada su concentración. A partir de la 13 semanas de gestación el feto humano alcanza un nivel de metabolito de prostacilina de 740 pg/ml. Estos metabolitos de prostacilina son eliminados por la orina en mayor cuantía que los metabolitos de la PGE^2 y PGF^2 .^{196,214}

En el transcurso del desarrollo fetal el aumento brusco de las prostacilinas provoca una disminución importante de la tensión arterial y del gasto cardiaco, así como una anti-agregación plaquetaria, estímulo de secreción de renina, aumento de la permeabilidad capilar para las proteínas y aumento del flujo, con disminución del mismo a nivel cortical renal.^{196,215,216}

En la fisiología fetal, el papel de las prostaglandinas es muy relevante; son responsables de la distribución del flujo renal cortical en las primeras etapas del desarrollo, o sea, sin haberse producido la nefrogénesis definitiva, tienen una misión importante sobre el riñón fetal. Estas sustancias son estimuladas en cuanto a su síntesis por una serie de factores como son: la angiotensina, la vasopresina, las catecolaminas, el volumen sanguíneo elevado del feto, así como una serie de factores patológicos (hipoxia, estrés, etc.)^{196,217,218}.

Las catecolaminas han sido estudiadas a nivel del feto "a término", encontrándose una concentración elevada de epinefrina y norepinefrina en el momento del parto. Su misión fundamental es el mantenimiento de la hemodinámica fetal y del equilibrio cardiovascular.^{219,220}

El aparato yuxta-glomerular del feto empieza a desarrollarse, a partir de la 17 semana de gestación²²¹. La aldosterona se sintetiza en la corteza suprarrenal del feto, a partir de la progesterona y corticoesterona, pero, solamente, a partir del tercer trimestre la secreción de la aldosterona es estimulada por el sistema renina-angiotensina²²². En el feto prematuro se han encontrado altas concentraciones de aldosterona; este hecho ha sido atribuido a una insensibilidad del riñón «inmaduro» o a un aumento de sensibilidad por parte de la mácula densa a la acción de la aldosterona.²²³



2. Hipótesis de trabajo. Objetivos

2.1. HIPOTESIS DE TRABAJO

Después de revisar ampliamente la bibliografía, se propone la siguiente hipótesis de trabajo:

1. La maduración del riñón fetal, así como la de las membranas fetales, se realiza de manera simultánea, y en consecuencia el transporte de "macroproteínas" por las membranas y el riñón fetal debe ser proporcional. Por consiguiente la permeabilidad glomerular y amniótica tendría que disminuir, progresivamente, con el aumento de la madurez fetal y aumentando en consecuencia la selectividad protéica, con disminución del peso de "macroproteínas" en relación a las menor tamaño¹⁶⁷.

Según esta hipótesis, la estructura de las membranas fetales tiene que modificarse, en lo que se refiere al tamaño de los poros de las membranas, de manera paralela a los cambios histológicos que se producen en la pared glomerular, lo cual coincide con el concepto del modelo patológico de las alteraciones de la membrana basal en los síndromes nefróticos¹⁶⁷.

Para aclarar esta hipótesis se estudiará el índice de selectividad, no en función del cociente de aclaramiento macroproteína/mesoproteína, sino en relación al cociente y porcentaje de eliminación en líquido amniótico de macroproteínas/mesoproteínas.

Las proteínas de peso molecular pequeño no son válidas para la determinación de un "índice de selectividad protéica" ya que son fácilmente reabsorbibles y metabolizadas por el túbulo proximal, por lo que su determinación es útil para valorar el grado de reabsorción tubular proximal, y en consecuencia valorar la maduración tubular renal^{166, 180, 191, 224}.

En nuestro estudio se determinaron macroproteínas, como la A₂M (PM 840 Kdaltons) y la IgG (150 Kdaltons). De las medianas se determinaron: la albúmina (69 kdaltons) y la transferrina (75 Kdaltons). Debemos aclarar que si bien por razones de claridad y simplificación, denominamos a estas últimas de tamaño "mediano", en realidad al rebasar la barrera de 68 (Kdaltons), deberán ser designadas como macroproteínas, pero se utiliza esta distinción para poder facilitar la comparación de los cocientes de aclaramiento¹⁶⁷.

2. La madurez tubular del riñón fetal y su correspondencia con la edad gestacional, será establecida según el manejo alcanzado por el túbulo renal en la reabsorción de las "microproteínas" que son habitualmente filtradas por el glomérulo y posteriormente reabsorbidas y catabolizadas por el túbulo proximal. En caso de "inmadurez" fetal o de daño tubular renal, se encontrarán pérdidas excesivas de microproteínas en el L.A. Este parámetro será cuantificado mediante el estudio de la concentración, cociente de eliminación y porcentajes de estas proteínas en el L.A. El trabajo de Burgard¹⁶⁶, nos adelanta una primicia en la viabilidad de nuestra hipótesis.

2.2. OBJETIVOS

1. Valoración de la concentración de cada proteína en particular, expresada en mcg/l, mg/l o g/l, que nos expresará una valoración cualitativa de la concentración existente en el L.A.
2. Determinación del cálculo porcentual que presenta cada proteína en particular, en relación a las proteínas totales amnióticas, al objeto de poder discriminar la variación, o las diferencias, de cada proteína o grupos de ellas, como expresión de eliminación de diferente para cada feto, según su maduración y/o edad gestacional.
3. Relacionar la concentración de cada proteína con la concentración de la creatinina amniótica, al objeto de que tenga un valor "semicuantitativo". Con esta correlación se intenta eliminar el posible error de concentración del L.A., ya que la creatinina nos servirá de indicador glomerular y del estado de concentración o dilución del líquido amniótico.
4. La capacidad de reabsorción tubular del riñón fetal en cada estado madurativo será evidenciada mediante el cociente proteína/creatinina, en lo referente a "microproteínas". El aumento de eliminación habrá que relacionarlo con una disminución de la reabsorción, y de manera inversa, la disminución del cociente indica una reabsorción tubular más madura.

Los cocientes de las "micro" y "macroproteínas" pueden ser indicativos del índice de "selectividad protéica"¹⁶⁷, este dato puede simplificarse obteniendo el índice: Cociente macroproteínas/mesoproteínas.

5. La correlación macroproteínas/microproteínas, nos será de utilidad para evidenciar una posible discordancia entre "permeabilidad glomerular", por un lado y "manejo tubular" por otro, y dilucidar si la maduración glomerular ocurre más precozmente que la tubular o es más tardío o incluso simultánea a lo largo de todo el desarrollo fetal.
6. La relación de los parámetros proteicos con los no proteicos e incluso con parámetros fetales tales como DDP ecográfico, peso natal, Test de Apgar, etc. tiene utilidad para buscar posibles correlaciones entre dichos parámetros y el grado de maduración fetal o con el estado patológico que presente el feto en cuestión.

3. Material y método

3.1. MATERIAL

El material utilizado fue líquido amniótico (L.A.), extraído por método convencional de amniocentesis. Las muestras obtenidas fueron todas las que el Servicio de Obstetricia consideró indicado por el diagnóstico prenatal del feto. Aprovechando dicha amniocentesis parte del fluido obtenido y que reuniera los requisitos para su inclusión en el estudio sirvieron de muestras definitivas, para analizar las diferentes proteínas, sus porcentajes y cocientes de eliminación, en cada una de las muestras. Véase figura 28, tomada de GONZALEZ-GOMEZ²²⁵ con modificaciones, donde se esquematizan los pasos metodológicos de la amniocentesis.

El número total de muestras del L.A. fue de 210, de los cuales sólo 180 fueron incluidos en el estudio, por reunir los parámetros y datos del protocolo establecido: datos obstétricos, no contaminación con sangre ni meconio y cantidad suficiente entre 7-10 ml.

Los 180 fetos fueron analizados, mediante determinación y/u obtención de proteínas individuales, creatinina, cociente L/E, delta 450, osmolalidad, diámetro biparietal, peso natal, edad gestacional al nacer, APGAR, presencia de patología fetal y/o materna o su ausencia. Si faltaba algún parámetro o ocurriese error de laboratorio, las muestras se rechazaban; quedando, finalmente, 131 muestras, que cumplían los datos obstétricos, de madurez fetal, etc.

Las muestras se han clasificado atendiendo a la edad gestacional en el momento de la amniocentesis. Y tanto este «dato subjetivo», aunque sometido a error de apreciación materna, como los parámetros objetivos prenatales (diámetro biparietal ecográfico, citología, cociente L/E, delta 450) y los postnatales (peso natal, y edad gestacional al nacimiento) se relacionaron con las distintas proteínas determinadas, tanto en su concentración como porcentajes de las mismas, sobre el total de proteínas amnióticas, así como con los cocientes de eliminación; utilizándola creatinina amniótica, como «marcador» glomerular, y los cocientes de cada una de las distintas proteínas, por cada una de las otras.

- | | | |
|------------------------------|----------|---------------------------------|
| a) Grupo testigo (maduro) | 76 casos | E.G. \geq 37 semanas |
| b) Grupo problema (inmaduro) | 56 casos | E.G. < 37 semanas (rango 22-44) |

En cuanto a la presencia o ausencia de patología se clasificaron así:

- | | |
|--------------------------------|----------|
| a) Grupo con patología fetal | 23 casos |
| b) Grupo con patología materna | 19 casos |

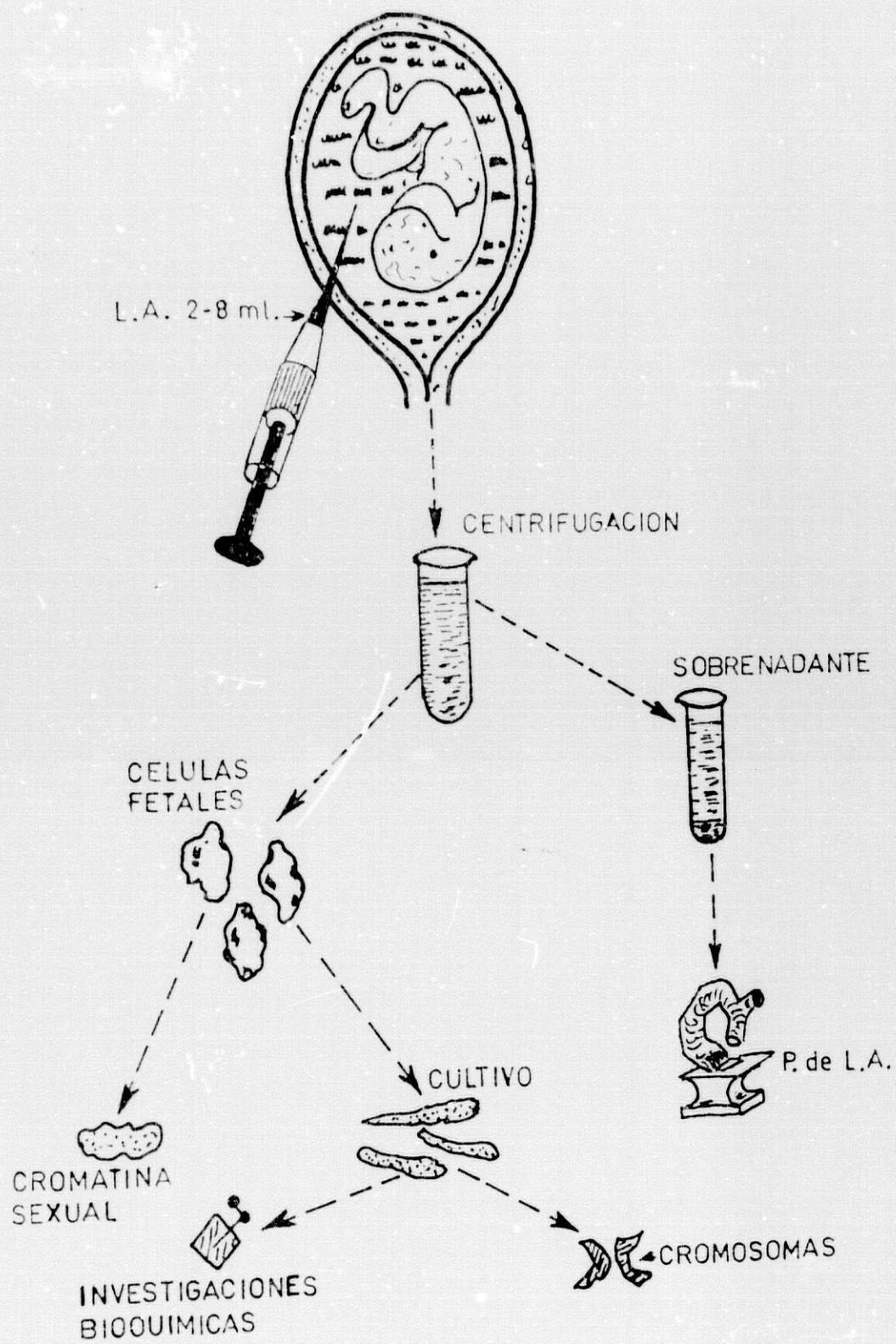


Fig. 28. Metodología de laboratorio

3.2. METODO

3.2.1. Metodología Analítica y Parámetros Obstétricos

El volumen obtenido de L.A. osciló entre 2-8 ml. Inmediatamente a su obtención, todas las muestras fueron centrifugadas, desechando el material graso del fluido amniótico que quedaba en la parte superior. Posteriormente, las muestras se filtraban y eran analizadas o se congelaban a -20°C para su posterior análisis, si bien nunca excedió en más de 3 meses el periodo de congelación.

Una vez que el L.A. estaba limpio y filtrado se procedía a centrifugación a 3000 revoluciones por minuto, en un concentrador para pequeño volumen de muestra y con un límite de 10 Kdaltons de P.M. Para tal fin utilizamos el CENTRICON MICROCONCENTRATORS DE AMICON-SCIENTIFIC SYSTEMS DIVISION, cuyo procedimiento permite, en su versión nº 10, separar moléculas de hasta 10 Kdaltons, pasando al ultrafiltrado, al otro lado de la membrana, todas las moléculas de P.M. inferior a 10 Kdaltons; con este procedimiento las «microproteínas» pueden ser concentradas sin que haya problema de paso a través de las membranas. La molécula más pequeña, que nosotros hemos manejado, en el estudio fue la B₂M, que recordamos tiene el P.M. de 11,8 Kdaltons.

Los grupos de fetos sometidos a estudio, si bien fueron inicialmente no seleccionados, posteriormente los agrupamos mayor o igual a 37 semanas de gestación, y menor de 37 semanas de gestación.

Del primer grupo, de fetos maduros mayor de 37 semanas, se obtuvieron 76 de muestras válidas, que son, estadísticamente, suficientes para poder sacar conclusiones, en cuanto al comportamiento de la madurez renal fetal, evaluada mediante las proteínas amnióticas, que posteriormente detallaremos en la metodología de laboratorio. Del segundo grupo, se obtuvieron un total de 56 muestras válidas, procedentes de fetos menores de 37 semanas.

Por indicación de la Cátedra de Bioestadística de la Universidad de Granada, se consideró innecesario los habituales subdivisiones en grupos y subgrupos de fetos, según la edad gestacional, y se sometió a un tratamiento estadístico, que, en el apartado correspondiente de «método estadístico», describiremos y al cual remitimos. La explicación de esta indicación es el tratarse de un sistema biológico «libre»; en el cual, obviamente, es difícil seleccionar las muestras en un tiempo largo; y hay que adaptar el estudio a las indicaciones obstétricas de am-

niocentesis. Por otra parte, es preciso señalar que, se trata de un estudio clínico y que pretende aportar alguna contribución a la práctica perinatal, mediante la comprensión de la fisiología renal fetal en el ser humano.

Al analizar, los resultados haremos hincapié en los valores que se obtengan de las distintas proteínas amnióticas y su relación con fetos de peso natal superior a 2.500 g. e inferior a 2.500 g.

Parámetros fetales y neonatales

Los parámetros fetales y neonatales, obtenidos en el Servicio de Obstetricia y la unidad de Neonatología, respectivamente, fueron los que se usan habitualmente como indicadores de madurez fetal:

1. Edad gestacional del feto en el momento de la amniocentesis, evaluada por la fecha de la última regla. Este dato es un parámetro de madurez fetal de capital importancia en el estudio y, si bien puede presentar algún error de cálculo en algunos casos aislados, en la mayoría es un dato basado en un hecho fácilmente objetivable por la madre, y universalmente admitido.
2. Cociente lecitina/esfingomielina. Este parámetro es determinado por el Laboratorio del Hospital «Virgen de las Nieves» de Granada, siguiendo una metodología habitual, consistente en densitometría por el HELENA FETAL-TEX 200 METHOD. Este dato tiene una utilidad, sancionada favorablemente por el uso, como parámetro de madurez pulmonar fetal; por lo que nos ha parecido de interés el relacionarlo con las distintas proteínas amnióticas, a fin de evaluar su posible correlación con aquellas, como indicadores de madurez renal fetal. Los valores habituales que se manejan para definir la madurez pulmonar son $L/E \geq 3$.
3. Delta 450. Este parámetro es medido mediante el método de LILEY espectrofotometría 525-380 nm, que cuantifica la densidad óptica del L.A. o diferencia de absorción a 450 nm. Lo hemos seleccionado, por ser de uso habitual en las determinaciones analíticas del L.A. y su relación con la madurez fetal. Para hacer más manejable, matemáticamente, esta variable la expresaremos en $X10^3$; así $\text{Delta } 450 \times 10^3 \geq 35$ la hemos aceptado con dato de «madurez fetal».

La cuantificación se realiza en el Laboratorio del Hospital «Virgen de las Nieves».

4. Citología de L.A. Consistente en la cuantificación del porcentaje de las células naranjas, como expresión de la maduración fetal, según técnica habitual del laboratorio del Hospital "Virgen de las Nieves de Granada", cuyos resultados son expresados en semanas de gestación, estimados en función de la cuantía de las células naranjas presentes en L.A.
5. Diámetro biparietal. Consiste en la determinación mediante ultrasonidos del diámetro cefálico biparietal del feto, el cual es expresado en cm, y correlacionado con las curvas estandarizadas correspondientes, para evaluar la edad gestacional fetal para dicho diámetro. Un valor ≥ 9 cm es indicativa de madurez fetal somática. Este dato nos fue suministrado por el servicio de Obstetricia.
6. Osmolalidad. La determinación de este párrafo la hemos realizado mediante el OSMOMETER ROEBLING. Con este dato pretendemos cuantificar el contenido de solutos y el grado de concentración de los mismos, expresados en mosmoles/Kg de L.A.
7. Ph de L.A. Se determinó mediante el pH-METER.MODEL-7. CORING. EEL. SCIENTIFIC-INSTRUMENT. Su cuantificación expresa la hidrogeniones y estado del equilibrio ácido-base, en el fluido amniótico.
8. Peso natal. Este dato fue suministrado por la Unidad de Neonatología del H. Infantil "Virgen de las Nieves" de Granada, mediante el sistema habitual de balanza. Es un parámetro de capital importancia para nuestro estudio, ya que refleja la situación de nutrición y maduración somática global que alcanzó el feto tras la gestación. Su relación, pues, con los indicadores que hemos seleccionado (macroproteínas, mesoproteínas y microproteínas de L.A.), podrían estar en relación con aquel parámetro; no obstante, es obvio, que, este peso natal, no coincide con el peso del feto en el momento de la amniocentesis, que es, naturalmente, desconocido, pero, dado que el intervalo existente, entre la edad de la amniocentesis y el momento del nacimiento, es de aproximadamente 3 semanas, ha sido incluido en el estudio estadístico. Globalmente considerados los fetos, y dado que el intervalo es muy similar, este error, se hace despreciable, en cuanto a la consideración de la correlación entre el peso natal del feto y los indicadores de maduración renal fetal mencionados.

9. Edad al nacer. Se valora mediante la fecha de la última regla, con la corrección correspondiente mediante el test de DUBOWITZ-FARR, que nos proporciona, el Servicio de Neonatología de la Ciudad Sanitaria "Virgen de las Nieves" de Granada.
10. APGAR-un minuto. Este parámetro consiste en la determinación del conocido test de APGAR, que nos expresa el estado general y la presencia o ausencia de anoxia neonatal o el grado correspondiente de la misma; este test se valora mediante una puntuación de 0-10.
11. APGAR-cinco minutos. Lo referido en el punto anterior es completamente válido y se pretende el mismo objetivo: relacionar el estado del feto, con su ausencia o presencia de anoxia, a los 5 minutos de vida, y los diferentes parámetros de proteínas amnióticas.
12. Patología fetal. La presencia de patología fetal o su ausencia, fue valorada por Ecografía fetal (dato suministrado por el Servicio de Obstetricia) o por la valoración al nacer, realizada por el Servicio de Neonatología mencionado. A la variable patología fetal se le asignó la puntuación 1, si estaba presente y cero a la ausencia.
13. Patología materna. Esta variable, al igual que la patología fetal, puede influir en lo referente a la presencia y cuantía de las distintas proteínas en dicho fluido. Para eliminar y separar esta influencia de la situación general de normalidad, asignamos en el estudio estadístico un 1 a la presencia de patología y un cero a la ausencia de patología.

3.2.2. Parámetros Amnióticos: Proteínas y Creatinina

Microproteínas

Estas proteínas presentan un P.M. inferior a 50 Kdaltons.

1. Beta-2-microglobulina. Con peso molecular de 11,8 Kdaltons, y por ser de bajo P.M. es filtrada y reabsorbida por el túbulo proximal en casi su totalidad; sólo pequeñas cantidades son eliminadas en la orina final en condiciones normales. Su presencia en el L.A. tiene una importancia considerable, al po-

der servirnos de indicador del manejo tubular renal del feto. Para su valoración determinaremos la: a) Concentración amniótica. b) Cociente amniótico $B_2M/Cr.$ y c) Porcentaje sobre las proteínas totales²²⁴.

2. Alfa-1-microglobulina. Es una microproteína de peso molecular de 23 Kdaltons. Su significado funcional renal puede ser similar, al mencionado para la B_2M , por lo que lo incluimos como indicador de maduración renal tubular^{166, 226}. Para lo cual determinaremos los siguientes parámetros: 1) Concentración amniótica de A_1M . 2) Cociente $A_2M/Cr.$ y 3) Porcentaje sobre las proteínas totales.

En la figura 29, tomada de FLYNN²³¹ con modificaciones se esquematiza, el manejo renal de las moléculas proteicas en estado normal y en presencia de Daño Glomerular (DG) y Tubular (DT).

Mesoproteínas.

Llamamos con este nombre al grupo de proteínas con P.M. entre 50 y 100 Kdaltons.

1. Albúmina. Presenta un P.M. de 69 Kdaltons; en estado de normalidad su presencia es, obviamente, muy escasa en la orina definitiva. Ante la presencia de una proteinuria importante, su proporción elevada, con relación a las macroproteínas indicaría, una patología glomerular, del tipo de permeabilidad selectiva, que, se expresa en términos de Índice o Cociente de aclaramiento de una macroproteína (p.e. IgG o A_2M) en relación al aclaramiento de una proteína de P.M. más pequeño (p.e. albúmina o transferrina)^{167, 227}.

Basándose en lo dicho en el párrafo anterior, y ante la imposibilidad evidente de estudiar la «permeabilidad glomerular fetal» por un cociente de aclaramientos, se estudiará, mediante el cociente de estas «mesoproteínas» con relación a las mencionadas «macroproteínas».

Para hacer más comprensiva, la relación tamaño molecular y paso por membranas glomerulares, así como los poros de las membrana basal, remitimos a las figuras 30 y 31, tomadas con modificaciones de varios autores^{229, 230}.

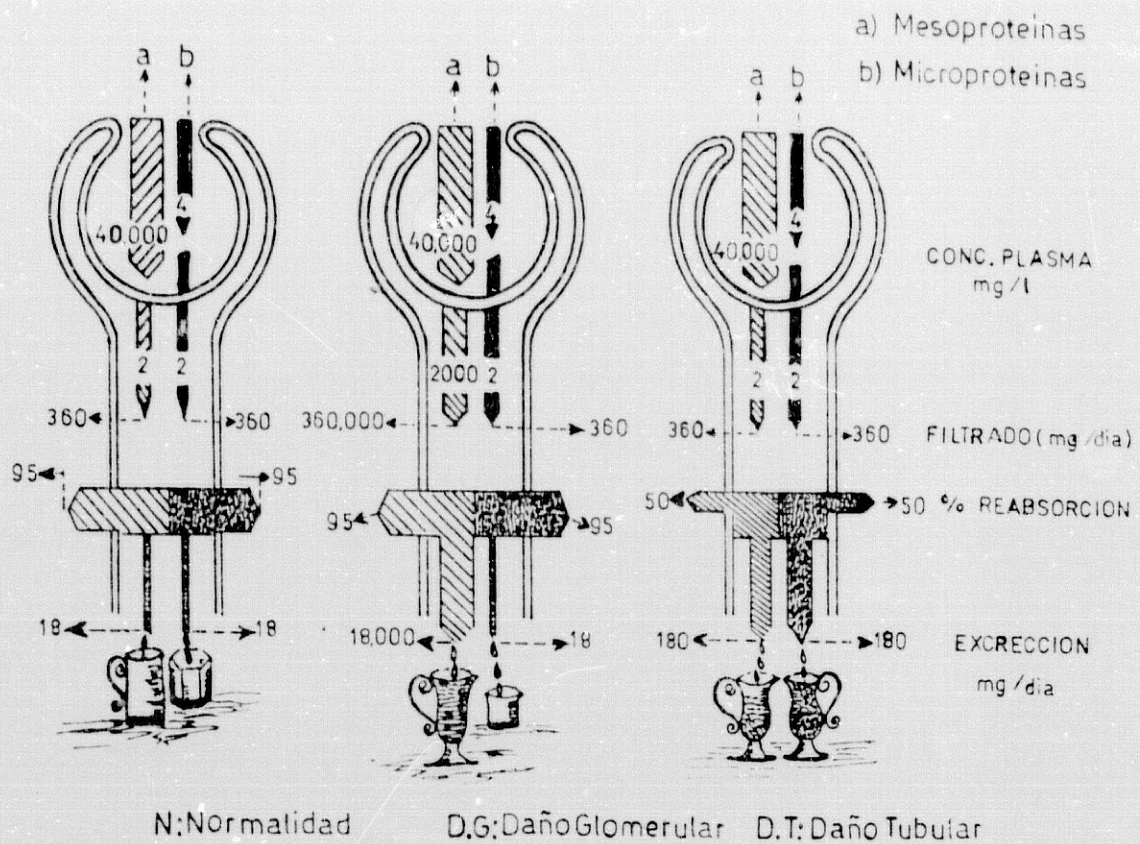


Fig. 29 Esquema del manejo renal de proteínas en situación de normalidad y patología glomerular o tubular.

2. Transferrina. Todo lo referente a la albúmina es completamente extrapolable, a esta «mesoproteína», que presenta un P.M. de 75 Kdaltons. Así pues, tanto para la albúmina, como para la transferrina, aplicaremos la metodología que hemos señalado más arriba: 1) Concentración amniótica de mesoproteínas. 2) Cocientes de cada una de ellas con relación a la creatinina. 3) Porcentajes de cada una de ellas con relación a las proteínas totales. 4) Cociente entre una «macroproteína» y una «mesoproteína», como posible indicador de selectividad proteica amniótica, paralelo a los cocientes de aclaramientos del modelo patológico del Síndrome Nefrótico.

3. Alfa-2-fetoproteína. Es una «mesoproteína» muy peculiar, puesto que su origen es fetal y su uso en Obstetricia está altamente difundido, al haber sido relacionada de forma fehaciente con la patología de los defectos del tubo neural del feto^{153, 156}. Su presencia cuantiosa en el L.A. vendría explicada, en estas patologías, por una especie de trasudación hacia el L.A., a partir del canal neural abierto. Pero, en nuestro estudio, estas patologías fetales han sido depuradas para evitar la falacia e interferencia que pudieran conllevar, ya que nos interesa, fundamentalmente, su presencia y su cuantía correspondiente, en función del grado de «permeabilidad glomerular», que presente el feto en sus distintas fases de desarrollo, con un tubo neural indemne. A esta mesoproteína le aplicaremos los mismos parámetros citados en el párrafo anterior, correspondiente a la transferrina.

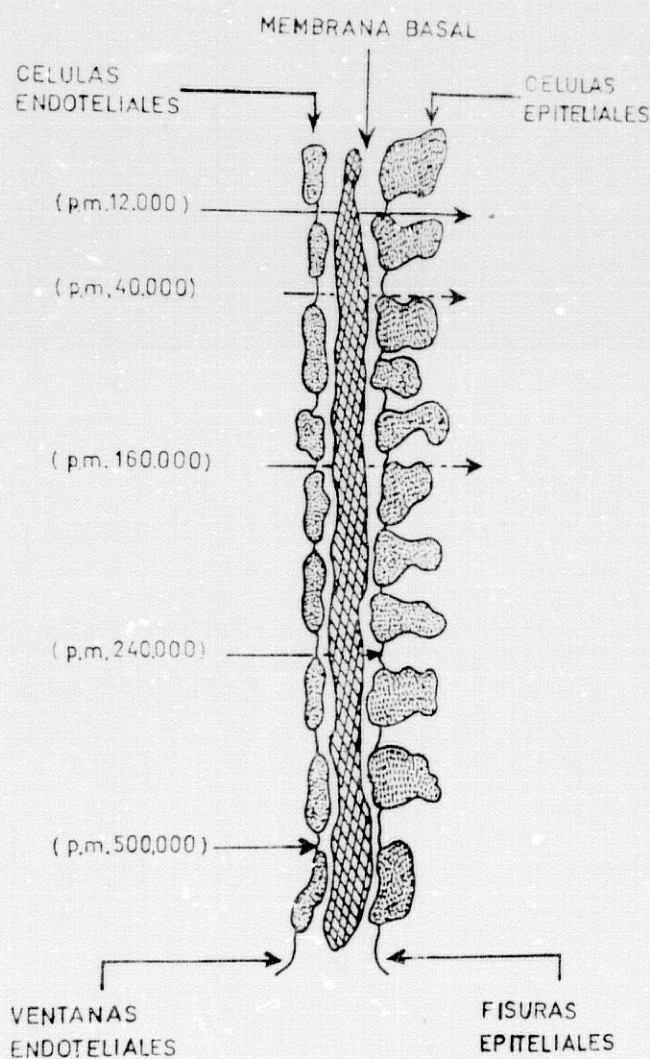


Fig. 30. Moléculas proteicas y barrera glomerular

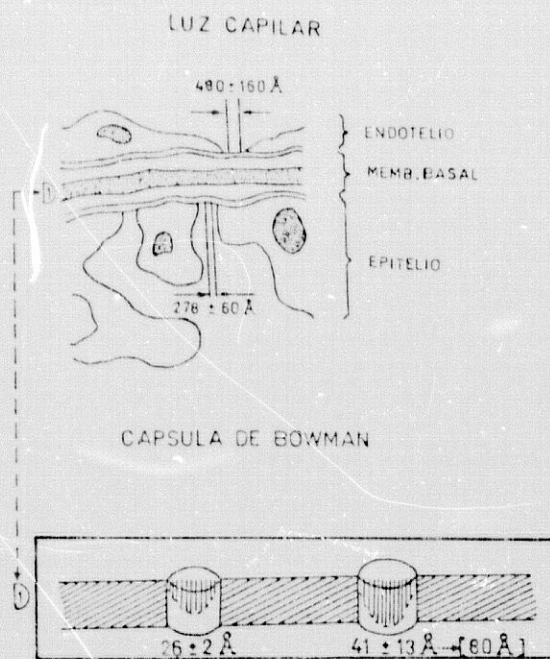


Fig. 31. Poros de membrana basal glomerular

Macroproteínas

En este grupo incluimos las alfa-2-macroglobulina y la inmunoglobulina G como representativas de dichas moléculas de P.M. elevado (superior a 100 Kdaltons).

1. Alfa-2-macroglobulina. Presenta un P.M. de 725 Kdaltons. Debido a su gran tamaño no pasa la membrana glomerular, más que en minúsculas cantidades y, sobre todo, si hay alteraciones de algún tipo en la permeabilidad glomerular; por lo que su uso es importante en la clínica nefrológica para el estudio de la selectividad de la proteinuria. Para este trabajo tiene un especial interés, ya que su presencia, en mayor o menor grado, puede representar una alteración o inmadurez de la «permeabilidad glomerular» del feto y/o de las membranas amnióticas coetáneas con dicho feto; por lo cual podría expresar la edad gestacional o maduración renal fetal, en que se encuentra dicha unidad biológica feto-amnios¹⁷⁴.

A esta proteína se le aplica la metodología habitual: concentración amniótica de la misma; cocientes con relación a la creatinina amniótica; porcentaje sobre el total de proteínas amnióticas; cocientes con relación a moléculas proteicas más pequeñas.

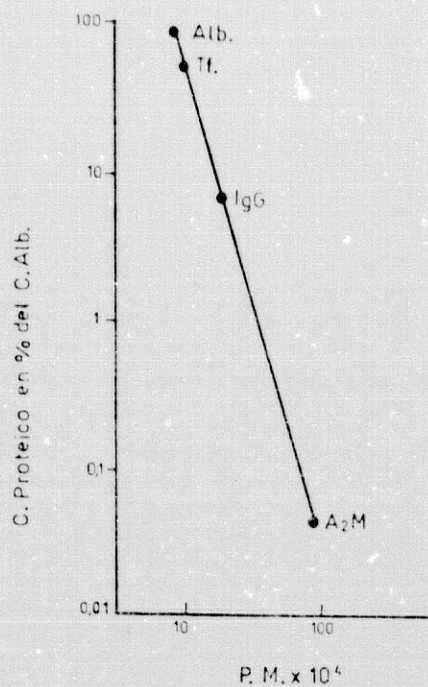


Fig. 32. Permeabilidad glomerular: Relación del P.M. y % de C. Albúmina

Obsérvese en la figura 32, tomada con modificaciones de PETRIE²³³, la relación inversa P.M. y aclaramiento proteico, como expresión de la permeabilidad glomerular.

2. Inmunoglobulina G. Su P.M. está próximo a los 150 Kdaltons. Su valoración es muy similar, a la que presenta la mencionada A₂M; si bien al ser más pequeña en P.M., y al poder existir problemas en la determinación, por existir fragmentos de Ig.G. su interés es menos importante que la A₂M. No obstante, debido a su consagrado uso en la clínica nefrológica para determinar la selectividad de la proteinuria, como indicador del tipo de permeabilidad glomerular, es por lo que la hemos incluido, en nuestro estudio, y aplicaremos la misma metodología citada en el párrafo anterior^{167, 227}.

Proteínas totales

Las proteínas totales se determinan por el método sulfosalicílico, en el Laboratorio del Hospital «Virgen de las Nieves». Es un parámetro de capital importancia, ya que nos servirá de punto de referencia, para valorar los porcentajes de cada proteína en particular

sobre el total mencionado; así mismo, su concentración y su cociente de eliminación, en relación a la creatinina amniótica, son valorados, en el presente estudio, y puestos en relación con las diferentes variables de la edad gestacional, maduración fetal, etc.

Creatinina

Esta variable expresa el grado de concentración amniótica, así como la capacidad de filtración-excreción renal del feto en cuestión. Su uso es considerable en el estudio prenatal habitual²²⁸ y, como ocurre en la orina en la clínica nefrológica, cualquier sustancia que se quiera expresar, en términos de eliminación semicuantitativa, hay que hacerlo en relación a la creatinina urinaria. Ejemplos de esta afirmación son los «multiusados» cocientes de eliminación urinaria Ca/Cr.; Ac. Úrico/Cr.; Albúmina/Cr. etc; ya que si se usa la simple determinación cualitativa de cualquier sustancia, puede haber errores de concentración o dilución del líquido urinario o, en nuestro caso, líquido amniótico. Es evidente que la creatinina no es una proteína, pero por ser sustancia nitrogenada la hemos incluido en este grupo. Habitualmente se utilizan los valores ≥ 17 mg/l como indicadores de «madurez renal»²²⁸.

3.2.3. *Métodos de Laboratorio de las distintas Proteínas Amnióticas*

1. Beta-2-microglobulina. Su determinación analítica es efectuada mediante inmunodifusión radial²³², siguiendo la metodología y técnica de SEROTEC-placas de inmunodifusión radial, para cuantificación humana de B₂M AHP 203 K de LANDER DIAGNOSTICO.

Debido a la escasa cuantía en la orina y demás líquidos biológicos, es preciso, concentrar la muestra, mediante un dispositivo de membrana que posea una porosidad inferior a su P.M.; ya que, de lo contrario, la proteína pasaría la membrana del concentrador. Para tal fin, elegimos el concentrador CENTRICON MICROCONCENTRATOR. AMICON/SCIENTIFIC SYSTEMS DIVISION, que consiste en un dispositivo para concentración por centrifugación, a través de una membrana con poros que solo permite el paso de moléculas inferior a 10 Kdaltons, y que nos ha resultado de un excelente utilidad, habiendo permitido la determinación de la mencionada proteína. La concentración se expresó en mg/l.

2. Alfa-1-microglobulina. La determinación analítica de esta microproteína se efectúa por el método de inmunodifusión radial²³², mediante las placas LKC-PARTIGEN. BEHRING. BEHRINGWEKE. AG, MARBURG (RFA). El

suelo standar de la proteína que utilizamos es el suministrado por la misma casa mencionada, que en el caso de la Alfa-1-microglobulina es el CONCENTRADO ESTANDAR DE PROTEINAS URINARIAS. BEHRING. Su realización es sencilla, como es habitual en el método de inmunodifusión radial, y además, tiene la particularidad de no precisar ningún tipo de manipulación de la muestra: ni concentración ni dilución, ya que, los valores habituales encontrados en el L.A. están siempre dentro del margen de medición, suministrado por las instrucciones del fabricante.

Una vez medido el halo de difusión, tras un tiempo alrededor de 2 a 3 días, se lleva a una gráfica elaborada con varias diluciones del standar y se determina la concentración de la muestra-problema correspondiente. La medición del halo se efectúa en mm, y la concentración de la proteína en mg/l. La elaboración de la curva para el cálculo de las muestras-problemas se efectúa en cada lote del mencionado estándar, que suministra la casa citada, con lo cual el error de las variables: temperatura, humedad ambiental, etc., quedan subsanadas, al elaborar dichas curvas en cada lote.

3. Albúmina. El procedimiento para su determinación es, similar al citado anteriormente para la Alfa-1-microglobulina, siendo, también, idéntico el producto comercializado que se usa, y que hemos referido en el párrafo anterior; con la salvedad que, para esta proteína, se utiliza el tipo de placas NOR-PARTIGEN. BEHRING. Esta proteína no necesita de la manipulación de la muestra amniótica, en el sentido de concentrarla o diluirla. Su siembra se hace directa, la lectura a las 48 horas y se utiliza una cantidad «mínima»: solo 5 microlitros de muestra. El rango de medición va de 0,8 g/l. a 12,1 g/l, si bien hemos expresado la concentración en mg/l.
4. Transferrina. Esta mesoproteína la determinamos analíticamente, mediante las placas LC-PARTIGEN. BEHRING; la cantidad utilizada es de 20 microlitros y la lectura del halo de difusión se realiza entre 48 y 62 horas. Para su cuantificación, y dado el margen o rango de medición que presenta la placa, es preciso la dilución previa de la muestra al 1/10, por lo que la cuantificación final que nos da la curva, elaborada con los estándares de proteínas, debe ser reconstituída multiplicando por 10 y expresada en mg/l. El resto de los aspectos metodológicos de laboratorio son similares a los descritos, tanto en la Alfa-1-microglobulina como en la Albúmina²³².

5. Alfa-2-fetoproteína. La cuantificación de esta peculiar proteína amniótica la realizamos en el Laboratorio del H. «Virgen de las Nieves». Su determinación se efectúa siguiendo el método de ENZIMOINMUNOENSAYO, que es el procedimiento habitual usado en dicho laboratorio. La concentración se expresa en mcg/l.
6. Alfa-2-macroglobulina. Esta macroglobulina es cuantificada siguiendo el método señalado de inmunodifusión radial simple²³², pero haciendo las siguientes salvedades específicas:

Debido a la escasa presencia de los líquidos biológicos, es preciso, la concentración previa de la muestra de L.A., para poder cuantificarla posteriormente. Para ello, usamos el concentrador MINICON-CS 15. AMICON DIVISION, W.R. GRACE & CO., que consiste en un dispositivo con una membrana que permite el paso de moléculas inferiores a 15 Kdaltons; por lo que todas las proteínas, de peso superior al citado, quedan en la parte concentrada del L.A. El dispositivo permite concentraciones de hasta 80 veces. Posteriormente, este concentrado es sembrado en los discos de Alfa-2-macroglobulina de bajo nivel, elaborados por el INSTITUTO BEHRING como son las placas LC-PARTIGEN. La cantidad de muestra concentrada utilizada es de 20 microlitros.

Al cabo de 5 días es efectuada la lectura, y el resultado del halo de difusión, en mm alcanzado, se lleva a una curva, elaborada con el estándar, suministrado por la mencionada casa: SUERO STANDAR DE PROTEINAS LC-A LC-V (HUMANAS). BEHRING. El resultado, obviamente, se divide por 80, que es el factor de concentración al que fue sometida la muestra original, y su concentración final se expresa en mcg/l.

8. Proteínas totales. Se determinan por la metodología habitual del laboratorio del H. «Virgen de las Nieves», que consiste en el método del SULFOSALICILICO, expresando las concentraciones en mg/l.
9. Creatinina. La creatinina se determina siguiendo la clásica metodología de la reacción de JAFFE. CINETICA modificado por BECKMANN-ASTRA, que es método habitual utilizado en el laboratorio del H. «Virgen de las Nieves», donde se determinó este parámetro en el L.A.. La concentración se expresan en mg/l.

3.3. METODO ESTADISTICO

La realización del estudio acerca de los niveles de distintas proteínas, seleccionadas en función de sus pesos moleculares (P.M.), nos ha llevado a dar los siguientes pasos:

1. Un análisis descriptivo de cada una de las variables objeto del estudio, donde se ha llevado a cabo el cálculo de los parámetros muestrales básicos: media, mediana, desviación típica, etc.
2. Cálculo de correlaciones y estudio de su significación, para cada uno de los parámetros de madurez fetal, con relación al conjunto de las proteínas totales. El estudio se realizó con el coeficiente de correlación lineal simple, dándose la significación de cada uno de estos coeficientes de correlación con una precaución: al haber un número muy grande de correlaciones (más de 100 podían ser de interés), se realizó una penalización muy fuerte de la significación, dándose como significativas solo aquellas que lo fueran por debajo de un $p < 0,0001$; lo que nos llevó a dar significativo a un $p < 0,05$ global a todo coeficiente que fuera superior a 0,2731, y al $p < 0,01$ global a todo coeficiente que fuera superior a 0,4551.

Con tal estudio se podía concluir que variables eran significativas y cuales no, teniendo en cuenta variables de tipo numérico.

3. Comparación de medidas entre los individuos con patología fetal y los sin patología fetal, y ello con respecto a cada una de las proteínas amnióticas. El mismo tipo de estudio se realizó para la patología materna.

Se pretendía ver, mediante este estudio, que proteínas se podían influenciar por una patología fetal, que, a su vez, influyera de alguna manera en las relaciones que antes habíamos obtenido. Este estudio se realizó con el «test de la homogeneidad de medias», previo test de homogeneidad de varianzas. Si el «test de homogeneidad de varianzas» no era significativo (es decir se podían considerar la varianzas iguales), entonces se realizaba el «test de la t-Student», para comparar dos muestras independientes. De otro lado, si el test de la homogeneidad de varianzas resultaba significativo, entonces se realizaba el «test de WELCH». Este estudio no se hizo a partir de las correlaciones entre la variable patológica del feto (convertida en variable numérica, asignando un cero a la categoría sin patología, y un 1 a la patología fetal), y las distintas proteínas, porque dicho estudio era menos sustancioso que el hecho aquí, que aporta mucha más información.

4. Estudio de «regresión múltiple paso a paso» de cada uno de los parámetros de madurez fetal, frente a las distintas proteínas, con objeto de determinar, en cada caso, el menor subconjunto de proteínas que determinasen mejor tal parámetro de madurez. Cuando se determinó el subconjunto se obtenía, por así decirlo, las proteínas que mejor representaban esa falta de madurez fetal.

Vamos a describir, brevemente, en que consiste el método de la «regresión múltiple paso a paso». En este método se enfrentan todas las variables, o sea, concentraciones proteicas, cocientes proteicos y porcentajes sobre el total de proteínas, al parámetro de madurez fetal, pero de manera individualizada. Se escoge la variable que tiene una mayor relación con él, y elegida ésta, se desquita el efecto (es decir el porcentaje de variabilidad que es capaz de explicar) de ella sobre el parámetro correspondiente. Hecho esto se vuelven a enfrentar las restantes variables con el parámetro, a ver si alguna sigue explicando una parte significativa de la variabilidad de dicho parámetro. Si esto es así, se elige aquella que explique un mayor porcentaje de variabilidad y se desgaja esta variabilidad, volviéndose a repetir el proceso mientras haya una variable que explique algo de la restante variabilidad.

El último detalle, en la «regresión múltiple paso a paso», fue introducir la variable patología fetal, como un carácter cuantitativo, a través de una variable de «paja» que nos llevaría a asignar un cero a los no-patológicos y un 1 a los patológicos.

Por último se valoró la bondad del ajuste realizado, a través del coeficiente de determinación (R^2), obtenido con la ecuación de regresión completa, que no es más que el porcentaje de variabilidad que son capaces de explicar las distintas variables introducidas en el modelo.

4. Resultados

4.1. DATOS OBTENIDOS TRAS ANÁLISIS DEL MATERIAL: PARÁMETROS NO-PROTEICOS

Estos parámetros habituales de maduración fetal y sus resultados están detallados en la tabla I-a1 y a2. No obstante, es preciso destacar lo siguiente.

4.1.1. *Edad gestacional en el momento de la amniocentesis*

Del total de 131 muestras de lo que fueron incluidas en el estudio, la media de la edad gestacional fue $36,12 \pm 3,27$ de desviación estandar (D.S.), con un error estándar de la media (E.S.) de 0,235. El límite inferior se estableció en 22 semanas y el superior en 12. Para más detalle véase tabla I-a.

4.1.2. *Cociente Lecitina/Esfingomielina*

La media obtenida fue de $1,93 \pm 0,42$ de desviación estandar. Otros datos estadísticos se pueden apreciar, detalladamente, en la tabla (I-a).

4.1.3. *Delta 450×10^3*

Los resultados fundamentales de este parámetro, en las muestras analizadas, arrojó una media de $15 \pm 1,54$, con un rango que va de 5 a 94. El resto de los resultados se pueden apreciar en la tabla I-a.

4.1.4. *Osmolalidad*

El resultado del análisis de los L.A. fue el siguiente: media de 257,51 mosmol/Kg H₂O, con una desviación estandar de 27,64. Los rangos de los resultados oscilan entre 210 y 376 mosmol/Kg H₂O.

4.1.5. *Diámetro biparietal mediante ecografía*

Los datos hallados, de más interés, son con una media de $8,74 \pm 0,45$ de desviación estándar. El diámetro mayor fue 10 cm y el menor 7,3 cm. Otros pueden encontrarse en la tabla I-a.

4.1.6. *Citología de L.A.*

Este parámetro fetal fue expresado en función de su extrapolación a la edad gestacional según la presencia de las células naranja del L.A. Así se obtuvo una media de 35,77 semanas de gestación $\pm 2,21$ de D.S. El rango de 27 a 39 semanas de gestación. Los detalles sobre este parámetro en cuanto a sus resultados pueden completarse en la tabla I.a.

4.1.7. *Ph de L.A.*

Los resultados obtenidos se concretan en una media de $7,25 \pm 0,31$ D.S. El rango del Ph amniótico se estableció entre 6,5 a 8,5; para completar los resultados de este parámetro vease tabla I.a.

4.1.8. *Peso natal*

El peso medio de los fetos fue de $2,88 \pm 0,66$ de E.S. El rango inferior fue de 0,75 kg. y 4,57 kg, el superior. Se encontró un coeficiente de variación de 0,22. El resto de los resultados de este parámetro quedan reflejados en la tabla I.a.

4.1.9. *Edad gestacional al nacimiento*

Esta variable está reflejada en la tabla I.a.; presenta los siguientes datos de interés: media = $38,35 \pm 2,63$ de D.S. La edad gestacional al nacimiento más baja fue de 29 y la más alta de 44 semanas de gestación. El resto de información sobre los resultados de esta variable se pueden observar en la tabla mencionada.

4.1.10. *APGAR. 1 minuto*

El resultado obtenido en la medición del APGAR de todos los fetos al nacimiento, cuando presentaban un minuto de vida, fue de $7,77 \pm 1,97$ D.S. El APGAR más bajo se estableció en 1 y el más en 9. Para más detalles de los resultados al respecto, véase tabla I.a.

4.1.11. *APGAR 5 minutos*

La media fue de $8,78 \pm 1,06$, de D.S., con un rango inferior de 3 y un superior de 10. Esta variable está reflejada en la tabla I, a la que remitimos.

4.1.12. *Patología fetal: y/o materna*

Representa el 13,7% del total de casos incluidos en el estudio.

4.2. PROTEÍNAS AMNIÓTICAS

4.2.1. Concentraciones Proteicas Amnióticas

(Tabla I-g). Como veíamos en la metodología, las diferentes proteínas las agrupamos en tres grupos, en función de su tamaño molecular, y siguiendo este orden, expresaremos, los resultados obtenidos:

1. Microproteínas. Recordamos que este grupo está formado por aquellas proteínas de P.M. inferior a 50 Kdaltons, y hemos seleccionado las de mayor interés y facilidad de determinación, para lo cual elegimos la Beta-2-microglobulina y la Alfa-1-microglobulina.

La Beta-2-microglobulina alcanzó una media de $5,94 \pm 0,34$ mg/l de E.S. El valor í-nimo fue de 1,6 y el máximo de 20,83.

La Alfa-1-microglobulina, cuyos resultados están expresados en la mencionada tabla, presentó $X \pm E.S.$ de $5,59 \pm 0,25$ mg/l.

2. Mesoproteínas. En este grupo se incluyen 3 proteínas con P.M. entre 50 y 100 Kdaltons, cuyos resultados vamos a expresar como sigue:

La Albúmina presentó $x \pm D.S.$: $2.437,24 \pm 698,4$ mg/l, el máximo valor alcanzado fue 4600 y el mínimo 1200.

La Transferrina alcanzó $x \pm D.S.$: $409,42 \pm 90,23$ mg/l, con rango inferior de 100 y superior de 780.

La Alfafetoproteína tiene una media, en nuestro estudio, de $398,73 \pm 27,81$ mcg/l ($x \pm Es$). El valor mínimo fue 52 y el máximo 2290.

Para estas tres «mesoproteínas» podemos ampliar la información sobre los resultados en la tabla I-g

3. Macroproteínas. La concentración media expresada en mcg/l de la Alfa-2-macroglobulina fue de $763,38 \pm 17,97$ ($x \pm E.S.$).

Para la Inmunoglobulina-G se obtuvo una concentración, en mg/l, con $x \pm E.S.$ de $221,35 \pm 11,40$. Tanto para ésta como para la Alfa-2-macroglobulina se pueden encontrar más datos en la tabla I-g.

4.2.2. Porcentajes de proteínas amnióticas (Tabla I-b)

Este parámetro es calculado hallando el porcentaje de cada proteína individualmente en función del 100% de proteínas totales.

1. Microproteínas. El porcentaje de la B-2-microglobulina fue de $x = 0,17\% \pm 0,01\%$ E.S. Para la Alfa-1-microglobulina encontramos un porcentaje medio de $0,159 \pm 0,007\%$ de E.S.
2. Mesoproteínas. El porcentaje medio obtenido de la Albúmina amniótica fue de $69,29\% \pm 0,94\%$ E.S.; para la Trasferrina fue de $12,16\% \pm 0,28\%$ E.S. y para Alfafetoproteína de $0,021\% \pm 0,0078\%$ E.S.
3. Macroproteínas. La Alfa-2-Macroglobulina presenta un porcentaje medio de $0,022 \pm 0,0007\%$ E.S.; la Inmunoglobulina G de $3,28 \pm 0,26\%$ E.S. Los detalles sobre estos parámetros pueden ampliarse en la tabla I.b.

4.2.3. Cocientes de «excreción» de proteínas amnióticas en relación a la creatinina. (Tabla I-c;d;e,f)

Este parámetro lo evaluamos mediante el cociente de concentración de una proteína concreta en relación a la concentración de creatinina amniótica. Siguiendo este método hemos encontrado los siguientes resultados al respecto:

1. Microproteínas. El cociente Beta-2-microglobulina/Creatinina presentó un valor medio de $0,32 \pm 0,023$ E.S., siendo el valor máximo de 1,35 y el mínimo 0,08.

La otra microproteína tiene en su cociente, con relación a la creatinina, un valor medio de $0,305 \pm 0,017$ E.S. El valor superior fue de 1,14 y el inferior de 0,093.

2. Mesoproteínas. El cociente Albúmina/Creatinina presentó una media de 131,21 $\pm 5,99$ E.S. con un rango que va de 1239 a 125, como límite superior e inferior respectivamente.

Para la Transferrina/Creatinina la media hallada fue de $21,32 \pm 0,79$ E.S., con un valor máximo de 60 y un mínimo de 9.

El cociente Alfafetoproteína/Creatinina fue $x = 21,37 \pm 1,73$ E.S., con límite superior de 94,3 e inferior de 2,16.

— Macroproteínas. La Ig.G/Creatinina presentó un rango superior de 55 e inferior de 0,6, con una media de $6,30 \pm 0,72$ E.S. La otra macroproteína estudiada, al efectuar su cociente de excreción con relación a la creatinina, nos dio el siguiente resultado $x = 40,07 \pm 1,61$ E.S. con un valor máximo de 109 y un mínimo de 16,8.

— Proteínas totales amnióticas. La valoración de este dato, expresado en función de la creatinina amniótica dió el siguiente resultado:

Valor medio de $186,14 \pm 7,26$ E.S., con un límite superior de 470 e inferior de 74. Tanto para este parámetro, como para todos los cocientes citados anteriormente, remitimos a la tabla I., donde se encuentra detallados los resultados obtenidos.

4.2.4. *Cocientes entre las proteínas amnióticas entre si, seleccionadas por sus diferentes tamaños moleculares (Tabla I.c,d,e,f,)*

Es de destacar los siguientes datos:

— Destacamos, el cociente A_2M/Tf con una media de $1,98 \pm 0,083$ de E.S.; $A_2M/Alb.$ en media: $0,33 \pm 0,01$ de E.S.

— Si relacionamos la «Macroproteína» amniótica A_2M con otras «microproteínas», nos encontramos con los siguientes resultados: A_2M/A_1M con media $161,44 \pm 6,13$ E.S. y A_2M/B_2M : $165,16 \pm 7,49$ E.S.

— La relación entre «Macroproteínas» y «Microproteínas» nos da los siguientes resultados globales: Tf/A_1M $x: 89,11 \pm 3,57$ E.S.; y Tf/B_2M , $x: 90,11 \pm 4,36$ de E.S.; y también: Alb/A_1M , $x: 509,87 \pm 19,12$ de E.S. y Alb/B_2M , $x: 506,44 \pm 19,73$ E.S.

4.3. RESULTADOS DEL ANALISIS ESTADISTICO

Todos los estudios estadísticos fueron efectuados por el Profesor LUNA, en la cátedra Bioestadística de la Facultad de Medicina de Granada.

Los resultados del análisis de las correlaciones entre las distintas variables pueden verse reflejadas en la tabla II (a,b,c,d,e,f,g.), en la que figuran los coeficientes de correlación entre las parejas de variables. Las curvas de regresión múltiple, donde la correlación es significativa, se pueden apreciar en las figuras 33 a 52.

Se da como significativo todos aquellos valores del coeficiente de correlación, que, en valor absoluto, fueron superiores a 0,2731 ($p < 0,05$), y a éstos se les marcó con un asterisco mientras que los que fueron superiores a 0,4551 son los que fueron marcados con dos asteriscos ($p < 0,01$). En base a ellos y tomando cada uno de los parámetros de madurez fetal se ha llevado a cabo un estudio de las distintas correlaciones, como sigue:

4.3.1. *Estudio de correlación de las proteínas amnióticas con la edad gestacional en el momento de la amniocentesis*

La mencionada edad gestacional, a la que se realiza la amniocentesis, se encuentra correlacionada de manera significativa con la Beta-2-microglobulina, Alfa-1-microglobulina y Alfafetoproteína, así como con la Albúmina y la Inmunoglobulina-G; presentando con ellas una correlación, suficientemente alta, para sistemas biológicos libres. Por otra parte, obsérvese que, al ser el coeficiente de correlación negativo, en todos esos casos se puede afirmar que la relación que existe es tal que, conforme aumenta la edad gestacional, son más bajos los niveles o concentraciones de tales proteínas en el líquido amniótico.

De todas formas la que tiene un mayor coeficiente de correlación es la Beta-2-microglobulina, que es la que aparece más altamente correlacionada con la edad gestacional; lo cual nos llevará, posteriormente, a insistir más sobre ella en un análisis multivariante. Obsérvese que además aparecen correlacionados los cocientes: B₂M/Cr; A₁ M/Cr; AFP/Cr.; Alb./B₂ M; Tf./B₂ M; Tf./A₁ M; Ig. G/Cr.; A₂ M/A₁ M y A₂ M/B₂ M.

En estos casos unas correlaciones son positivas y otras negativas, significando, evidentemente, cosas distintas con la edad gestacional; de manera que, conforme aumenta la edad gestacional, disminuye tal cociente, lo que no hace más que potenciar el efecto de la B₂ M, ya que seguramente ese cociente disminuye a ésta, sobre todo, de un descenso de la

B₂ M. Aquí aparecen más coeficientes con correlaciones positivas, lo que afirma que dichos cocientes aumentan, conforme la hace la edad gestacional, por ejemplo el cociente A₂ M/A₁ M y el A₂ M/B₂ M, sabiendo que la A₁ M y la B₂ M descienden con respecto al avance de la edad gestacional. Mientras que la A₂ M parece quedar constante, es claro que el cociente A₂ M/A₁ M se hace más grande, pues el A₁ M se hace más pequeña, ocurriendo lo mismo con el cociente A₂ M/B₂ M.

Finalmente, con respecto a los «porcentajes», los únicos que dan significativo son los de A₁ M y B₂ M que, naturalmente, son negativos y que nos ayudarían a concluir que, efectivamente, el aporte de ambas proteínas a las totales es cada vez menor, conforme aumenta la edad gestacional.

Como resumen podemos afirmar que las mayores correlaciones se dan en las cifras «absolutas» o concentraciones de proteínas amnióticas, y es sobre las que se ha basado nuestro comentario. Los resultados de los «cocientes» y los «porcentajes» confirman y refuerzan tales resultados. En un estudio posterior de tipo multivariante se precisará más el papel de cada una de estas proteínas.

4.3.2. *Correlación entre las proteínas amnióticas y el cociente lecitina/esfingomielina*

Para este parámetro de madurez fetal se encuentra significación clara con la Creatinina amniótica, y es de tipo positivo; es decir que conforme es más alto el cociente mencionado, mayor es el nivel de concentración de Creatinina.

Con las demás variables la correlación no parece ser muy fuerte, estando la mayoría lejos de la significación. Sin embargo en algunos cocientes, que llevan en el denominador a la creatinina amniótica, parece existir indicios de significación, lo cual parece apuntillar más tal variable en el condicionamiento sobre el cociente, que habitualmente se utiliza como indicador de la maduración pulmonar.

4.3.3. *Correlaciones entre proteínas amnióticas y el delta-450*

En este caso las variables más altamente relacionadas con el delta-450 son, en cuanto a valores «absolutos» o de concentración amniótica, los siguientes: Inmunoglobulina G, Albúmina, Alfa-1-microglobulina, Proteínas totales y Creatinina. No obstante, es preciso aclarar que la correlación de dichos parámetros proteicos con la delta 450 es completa-

mente distinta a las que guarda con la creatinina, pues el coeficiente de correlación es de signo negativo; lo que quiere decir que, conforme es más alto el valor del delta-450, menor es el valor de la creatinina con respecto a las proteínas citadas; conforme es mayor el nivel de concentración de ellas es mayor el valor del delta-450.

Con respecto a los cocientes que muestran una relación significativa con el delta-450, hay que citar los siguientes: PT/Cr; IgG/Tf; IgG/Cr; Tf/Cr; Alb/Cr y A₁M/Cr.

Todos tienen un coeficiente de correlación positivo, es decir son más grandes, conforme es más grande el delta-450. Además, si se observa, en todos ellos, salvo en uno, aparece en el denominador la Creatinina y en los distintos numeradores aparecen las proteínas, que previamente nos habían dado significativas. Ello es debido a que, en estos cocientes, aparece reforzado el efecto de las variables del numerador, puesto que al evolucionar la Creatinina que está en el denominador, de tal manera que, conforme aumenta el delta-450, ella disminuye y el cociente tiende a hacerse mayor conforme aumenta el delta-450.

Por último, en el terreno de los porcentajes de proteínas amnióticas, el único que resulta, claramente significativo, es el de la Inmunoglobulina-G, que aumenta conforme es mayor el delta-450.

Podemos resumir diciendo que hay una relación importante entre el delta-450 y la Inmunoglobulina G, la Albúmina, la Alfa-1-microglobulina, las proteínas totales y la Creatinina, lo cual se ve reforzado por la existencia de correlaciones también fuertes entre cocientes de dichas variables y la Creatinina amniótica.

4.3.4. *Relación entre las distintas proteínas amnióticas y el diámetro biparietal del feto*

Con respecto a las cantidades «absolutas» o concentraciones amnióticas sólo muestran relaciones claramente significativas la Alfafetoproteína y la Beta-2-microglobulina; ambas correlaciones son negativas. Lo que quiere decir que, conforme se hacen más grandes los valores del diámetro biparietal, menores se hacen los de tales variables. La Creatinina no llega a dar significativa; sin embargo, de haber dado tal correlación, hubiera sido positiva, lo que nos ayudaría a explicar mejor el resultado inmediatamente posterior.

Para los cocientes, los dos únicos que dan significativos son, justamente, los siguientes: B₂ M/Cr; AFP/Cr. Además ambas correlaciones son negativas. Obsérvese que los dos

cocientes obtenidos ratifican el importante papel de ambas variables en este caso, pues vuelven a aparecer las dos en los cocientes significativos. Tales cocientes, además, han resultado muy significativos.

Resumiendo para el diámetro biparietal fetal las variables que muestran una mayor correlación han sido la Alfaetoproteína y la Beta-2-microglobulina.

4.3.5. *Relación entre proteínas amnióticas y la citología del L.A.*

En este caso, solo una proteína ha resultado significativa, concretamente la AFP, que está relacionada con la citología, de manera que, conforme es más alta, más baja es la AFP amniótica. Por lo que a los cocientes se refiere el único, que da claramente significativo, es el A_1M/G .

4.3.6. *Relación entre las concentraciones, porcentajes y cocientes de las proteínas amnióticas y la edad al nacer*

En términos absolutos las variables, que se relacionan con la edad al nacer, son la Beta-2-microglobulina y la Alfa-1-microglobulina, que, como viene ocurriendo, están relacionadas de manera negativa. Es decir, conforme aumentan los niveles de concentración proteica, disminuyen la edad al nacer; o sea, cuando mayor es la edad al nacimiento mayor es, obviamente, la madurez del feto y son menores las cantidades de concentración amniótica de dichas proteínas, si bien no olvidando la distancia en el tiempo de ambas cosas.

Con respecto a los cocientes, los que dan significativo son: $A_2 M/A_1M$; $A_2 M/B_2 M$, $Tf/A_1 M$; $Tf/A_2 M$; $A_1 M/Cr$ y $B_2 M/Cr$. Los cuatro primeros cocientes dan significativo y son positivos, cosa que refuerza el papel de la $B_2 M$ y de $A_1 M$ en este caso y que es lógico, pues en ellos ambas proteínas figuran en el denominador. Por contra, en los otros dos cocientes figuran en el numerador la $B_2 M$ y la $A_1 M$, lo que hace que sean significativos, pero con una correlación negativa.

Por último, en los porcentajes dan significativos, con correlación negativa, tanto la $A_1 M$ como la $B_2 M$, queriendo decir que, conforme es mayor la edad al nacer, se encontraba en el momento de la anioyocentesis una menor proporción de dichas proteínas en el líquido amniótico.

Resumiendo, para la edad al nacer parece que juegan un papel importante la Alfa-1-microglobulina y la B-2-microglobulina, ambas «microproteínas».

4.3.7. *Correlación entre las distintas proteínas amnióticas y el peso al nacer*

En términos absolutos las significaciones encontradas fueron: Proteínas totales, B-2-microglobulina y Albúmina. Además las correlaciones son negativas, es decir cuanto mayor era el contenido en proteínas totales, B₂M y Alb, mayor será el peso del niño a la hora de su nacimiento.

Los cocientes que dan significativos son: B₂M/Cr; Alb/B₂M y Tf/B₂M. En ellos aparece la B₂M siempre, ya sea en el numerador o en el denominador, pudiéndose en esta caso determinar el signo del coeficiente de correlación de ellos, pues basta con tener en cuenta que conforme se haga más grande la B₂M, menor será el peso al nacer, o sea, que, si la B₂M está en el denominador, el cociente aumentará y será más grande conforme lo sea el peso al nacer, y el coeficiente será positivo. De idéntica forma ocurre para los cocientes: Tf/B₂M y Alb/B₂M; por contra, el otro cociente es también significativo, y tiene un coeficiente de correlación negativo, como era de esperar.

Con respecto a los porcentajes de las diferentes proteínas no da ninguno de ellos significativo, pero el que se encuentra más cerca es el de la B₂M.

Por tanto, para el peso al nacer las proteínas, que mantienen una mayor correlación son la B₂M y la Alb, y, así mismo, las proteínas totales.

4.3.8. *Relación entre proteínas amnióticas y el APGAR al minuto*

En concentraciones, las variables que intervienen en una mayor correlación con el APGAR (relación significativa, claro está) son las A₁M; B₂M y Alb. Relaciones todas ellas negativas. Es decir, relaciones que, conforme aumentan la concentración de dichas proteínas, disminuye el posterior APGAR. De la manera que, los cocientes que dan significativos, aparecen los A₁M/Cr y B₂M/Cr, con signo, evidentemente, negativo reforzando así el papel de ambas proteínas. Por último, el porcentaje que sale significativo es el de la B₂M.

4.3.9. *Relación entre proteínas amnióticas y el APGAR a los cinco minutos*

En términos absolutos las proteínas relacionadas con el APGAR 5 min, son: Proteínas totales, Beta-2-microglobulina, Alfa-1-microglobulina y Albúmina. Todas ellas presentan correlación negativa. La única diferencia, entre este resultado y el del APGAR 1

min., es que allí las proteínas totales no llegaban a dar significativas, pero se encontraban cerca de la significación ($r = -0,2480$).

Con respecto a los cocientes dieron significativos los siguientes B₂M/Cr; Alb/Cr; A₂M/Alb y PT/Cr. Todos ellos son con correlaciones negativas, salvo el A₂M/Alb, que, al tener la Alb, en el denominador y al estar relacionada negativamente con el APGAR-5 min., hace que la correlación sea, con su cociente, de carácter positivo.

En los porcentajes de las distintas proteínas amnióticas en ninguno encontramos significación.

Obsérvese que los casos del APGAR 1 y 5 min., se encuentran significaciones muy parecidas en ámbos, pero, como es lógico, mucho más patentes en el caso del APGAR-5 minutos..

4.3.10. *Relaciones entre los distintos parámetros de madurez fetal*

Los parámetros, que hemos venido manejando hasta aquí, representan diferentes sistemas y miden la madurez para ellos. Además hay parámetros subjetivos y otros que son objetivos, de manera que tiene sentido un estudio de la correlación entre ellos, con objeto de determinar de donde provienen las correlaciones existentes entre dichos parámetros y las proteínas.

En este estudio se han incluido también algunas variables, que no son propiamente utilizadas como parámetros de madurez fetal, pero si pueden estar relacionados con ellos.

La edad gestacional a la que se realizó la amniocentesis se encuentra relacionada, fuertemente, tanto con los APGAR, como con la edad al nacer. Cosa, por otro lado, absolutamente lógica; además está relacionada, positivamente, con el diámetro biparietal ecográfico del feto, la citología y el peso al nacer; y no llega a dar significación, aunque se encuentra cerca de ella, con el cociente L/E y con el Delta-450. Salvo con el Delta-450, en que la correlación es negativa, con todos los demás presenta una correlación positiva.

Por tanto, la edad gestacional en el momento de la amniocentesis guarda correlación, aunque no sea muy alta, con todos los otros parámetros de madurez fetal; por ello parece la ideal, para basar sobre ella un estudio de madurez fetal y proteínas en L.A. Todo ello pese a la evidente subjetividad del dato y los posibles errores, que pueden afectarle, aunque bien mirado esta subjetividad es para la mayoría de las mujeres gestantes muy relati-

va, ya que es una fecha de fácil memorización, al ser un acontecimiento de vital importancia en la vida de las personas.

El Cociente Lecitina/Esfingomielina, salvo la correlación ya señalada, no muestra relación con ningún otro parámetro de madurez fetal; claro está, salvo la consabida excepción de la madurez pulmonar fetal, que no es objeto de nuestro estudio.

El Delta 450, muestra una correlación significativa, de naturaleza positiva, con la Osmolalidad y con la patología fetal, en el sentido que: es mayor, por término medio, en los fetos con patología que en los fetos sin patología, considerando la patología en términos amplios sin especificar aparatos o sistemas fetales patológicos.

La Osmolalidad amniótica se ha incluido aquí como variable acompañante y no muestra correlación con ningún parámetro de madurez fetal, salvo la expuesta en párrafo anterior.

El Diámetro biparietal ecográfico del feto muestra correlaciones significativas y positivas, tanto con el peso al nacer como con la edad al nacer.

La Citología de L.A. muestra correlación de tipo positivo con la edad al nacer.

El Peso al nacer, evidentemente, muestra correlación de naturaleza positiva con la edad al nacer y con los dos APGAR.

El Ph de líquido amniótico, éste parámetro analítico del L.A. no muestra correlación significativa con ningún variable.

La Edad al nacer muestra correlaciones positivas con los APGAR. Por otra parte, presenta otra relación, que, es lógica, cuando el feto tenía una patología muestra por término medio una menor edad al nacer.

El APGAR-1 min., está relacionado, significativamente y obviamente, con el APGAR-5 min.

4.3.11. *Correlación entre las distintas proteínas amnióticas, en términos «absolutos» o de concentración*

1. Alfa-2-macroglobulina. La única correlación significativa de esta proteína es con la Transferrina y es de naturaleza positiva.

2. Inmunoglobulina. Demuestra correlación significativa con las siguientes proteínas y, en todos los casos, las correlaciones son de tipo positivo: Transferrina, Albúmina, Alfa-1-microglobulina, Beta-2-microglobulina y Proteínas totales.
3. Transferrina. Además de las correlaciones ya citadas la transferrina se relaciona, positivamente, con la Albúmina, la Beta-2-microglobulina y las Proteínas totales.
4. Albúmina. Esta proteína se relaciona con la Alfa-1-microglobulina, Beta-2-microglobulina y muestra una correlación muy alta con las Proteínas totales. No olvidar que, además, presenta correlaciones ya citadas en párrafos anteriores.
5. Alfa-fetoproteínas. Presenta las citadas correlaciones con la Alfa-1-microglobulina.
6. Alfa-1-microglobulina. Además de las correlaciones citadas con la B-2-microglobulina y las Proteínas totales, presenta una peculiar relación entre ella y la Beta-2-microglobulina, y es esta correlación la que puede hacer que aparezca, en muchos casos ambas, ligadas a algunos parámetros.
7. Beta-2-microglobulina. Está relacionada con las proteínas totales, además de las ya citada en párrafos anteriores.

4.4. COMPARACION DE MEDIAS ENTRE FETOS PATOLOGICOS Y NO PATOLOGICOS

Antes de empezar con el estudio, de como puede influir la patología fetal en los distintos tipos de proteínas estudiadas en el L.A., digamos que, el mismo estudio, se realizó para el caso de la patología de la madre no encontrándose significación en ningún parámetro.

Con respecto a la comparación entre fetos patológicos y sin patología se realizaron las comparaciones de medias, que figuran en la tabla III, y que nos pueden llevar a los siguientes comentarios.

1. Ninguna de las variables da claramente significativa. Ello es debido a que, al ser un número tan alto de comparaciones (45 en total), ninguna de ellas deberá darse como significativa si no tiene, en su comparación, un valor P inferior a 0,05/95, es decir inferior al 1 por mil.

2. No obstante, en términos absolutos o de concentración, todas las proteínas salvo la Transferrina, la Alfa-2-macroglobulina y la Alfa-fetoproteína dan indicios, más o menos patentes de significación.

3. Es, en los cocientes amnióticos, donde aparece la única variable que se acerca a la significación, concretamente el cociente $A_1M/Cr.$, que tiende a ser mayor en los patológicos que en los no patológicos. Dan también indicios de significación en los cocientes: $PT/Cr.$; A_2M/A_1M ; A_2M/B_2M ; $A_2M/Cr.$; $Ig.G./Tf.$; $Ig.G./Cr.$; y $Tf./Cr.$ Por supuesto que, las posibles significaciones, serían en el mismo sentido que la anterior; las citadas variables tenderían a dar valores más altos para los individuos patológicos que para los normales.

4. En cuanto a porcentajes de las distintas proteínas los únicos indicios de significación se dan en la inmoglobulina-G.

Como se ve en las significaciones obtenidas, muchas de las proteínas coinciden, dando significación o estando cerca, en fetos patológicos y no patológicos y en su correlación con algunos parámetros de madurez fetal. Por ello, en el estudio multivariante de madurez fetal, desquitaremos, a veces, el efecto de esa variable con objeto de asegurarnos que la relación encontrada, entre algunas proteínas amnióticas y el parámetro de madurez fetal, no es más que un espejismo de la patología del feto.

4.5. RESULTADOS DEL ESTUDIO DE REGRESION MULTIPLE DE CADA UNO DE LOS PARAMETROS DE MADUREZ FETAL FRENTE A LAS PROTEINAS AMNIOTICAS

En este estudio se enfrentan cada uno de los parámetros de madurez fetal con el conjunto de las proteínas amnióticas con objeto de obtener el mejor subconjunto de ellas, que determine al citado parámetro. Como en el estudio univariante se vio, para cada parámetro, había una serie de proteínas amnióticas que estaban relacionadas con él, y que, a su vez, estaban relacionadas entre sí; se pretendía ver si desquitado el efecto de una de ellas sobre él, las otras seguían guardando relación, y cuantas de ellas seguían haciéndolo. Se trataba, de suma, en buscar las proteínas que fuesen capaces de determinar mejor el parámetro de madurez fetal objeto del estudio. Véase figuras 33 a 52.

El mecanismo que se siguió fue el de la «regresión múltiple paso a paso», que ya fue explicado en el material y métodos.

Las variables independientes introducidas en el proceso fueron las distintas proteínas amnióticas, en valor absoluto o de concentración, los distintos cocientes entre ellas y la Creatinina, y los distintos porcentajes sobre las proteínas totales amnióticas. Así mismo, como variable independiente, también se introdujo la patología del feto. Por último, la variable dependiente, fue en cada caso, el parámetro objeto del estudio.

4.5.1. *Estudio de la regresión múltiple para la edad gestacional*

Los resultados del proceso paso a paso figuran en la tabla IV-a de ella se pueden extraer los siguientes datos:

1. La variable que mejor determina la edad gestacional es la Beta-2-microglobulina, que, por si sola, es capaz de explicar aproximadamente el 39, 75% de la variabilidad de la edad gestacional.
2. Eliminado el efecto de la edad gestacional la variable, que guarda una mayor relación con la edad gestacional, es la Alfa-fetoproteína, que produce un incremento del porcentaje de varianza explicada de un 13, 91%.

3. Eliminado el efecto conjunto de la B-2-microglobulina y de la Alfetoproteína quedan tres variables, que cada una de ellas provoca un incremento de varianza explicada de alrededor de un 2% que, aun siendo significativa, no es tan alto como el de las otras dos variables anteriores.
4. El porcentaje de variabilidad, explicada por el conjunto de las cinco variables introducidas en el modelo, es de un 59, 183%, que es un valor bastante alto tratándose de sistemas biológicos «in vivo».

Por tanto las variables que mejor determinan a la edad gestacional serían en este orden: B₂M; AFP; AFP/A₁M; % de Alb; y Tf/Cr; no obstante, las dos más importantes son B₂M y AFP.

4.5.2. Resultados de la regresión múltiple para el cociente L/E

De la tabla IV-b, se puede extraer y destacar los datos siguientes:

1. Que la variable, que mejor determina al mencionado cociente, es la Creatinina, que llega a explicar ella misma sola el 9, 63% de la variabilidad del cociente L/E.
2. Inmediatamente después de la Creatinina, y eliminado el efecto de ésta, la variable que mejor determina al cociente L/E es el cociente A₂M/B₂M, que aporta un 6, 12% de incremento a la variabilidad del cociente L/E.
3. Por último, y después de introducidos en el modelo las dos variables anteriores, la que entra es el cociente A₂M/Tf. Entre las 3 son capaces de explicar un 19, 66% de la variabilidad del cociente L/E.
4. No hay ninguna variable que sea capaz de aportar alguna parte significativa a la variabilidad del mencionado cociente.
5. Como se ve, el porcentaje de variabilidad explicada del cociente L/E es mucho más bajo (19, 66%), que el que conseguía explicar para la edad gestacional. Ello es lógico y nos puede llevar a una conclusión de que las proteínas amnióticas determinan bastante bien la edad gestacional, pero no tan bien el cociente L/E o madurez fetal pulmonar.

4.5.3. Resultados de la regresión múltiple para el delta 450

De la tabla IV-c, se puede extraer los datos siguientes:

1. La variable que mejor determina el delta 450 es justamente la patología fetal, que es capaz de explicar por si sola el 18,94% de la variabilidad de dicho parámetro. Esta era una de las situaciones que se esperaba, en el sentido de que se pretendía tener la seguridad de que tal variable no estaba detrás de una significación de alguna proteína amniótica.
2. Inmediatamente después de la patología fetal, y eliminado el efecto de ésta, la variable que obtiene una mayor tasa de explicación del delta 450 (7,37% de incremento) es la Inmoglobulin G.
3. Finalmente la variable más significativo, después de haber desquitado el aporte de las anteriores, es el cociente A_2M/AFP , con un 4,74% de incremento en la explicación de la variabilidad del delta-450.

En total, el porcentaje de variabilidad explicada por las variables del modelo es de un 31,05% que es sensiblemente superior al que se conseguía con el cociente L/S.

4.5.4. Resultados de la regresión múltiple para la citología amniótica

Observando la tabla IV-d se pueden destacar las afirmaciones siguientes:

1. La variable que, individualmente mejor determina la citología del L.A. es la Alfa-fetoproteína, ya que es capaz de explicar por ella sola el 12,62% de la variabilidad de la misma.
2. La siguiente variable, desquitado el efecto de la Alfafetoproteína, sería el cociente Alb/AFP , que aporta un 5,66% adicional a la variabilidad de la misma.
3. Inmediatamente después de las dos variables anteriores las que mejor determinan la cantidad restante son las proteínas totales y el cociente $A_1M/Cr.$ con, aproximadamente, un 3% de la variabilidad restante explicada.
4. El porcentaje de variabilidad explicada es de un 24,68% que como se ve es inferior al delta-450 y más parecido al cociente L/E.

4.5.5. *Resultados de la regresión múltiple para el diámetro biparietal ecográfico del feto*

En este caso se realizaron dos estudios: el primero, enfrentando el diámetro a las proteínas amnióticas sólo; en un segundo estudio, teniendo en cuenta que este diámetro biparietal se podía ver condicionado por la edad gestacional, cosa que es lógica y que se demostró, se realizó la regresión múltiple, desquitando el efecto de la edad gestacional y se volvió a repetir el proceso.

Los resultados de ambos estudios están en las tablas IV-e-1 y IV-e-2, respectivamente, de las que se pueden destacar lo siguiente:

1. Cuando no se considera la edad gestacional la variable que mejor determina el diámetro biparietal es la Alfafetoproteína, que es capaz de explicar por ella sola el 10, 3% del de la variabilidad de dicho diámetro. Después de ella la que más explica es el cociente Tf./B₂M, que da un incremento de un 5, 56%. Entre ambas llegan a explicar un 15, 85% de la variabilidad del diámetro biparietal del feto. Como se ve es un porcentaje muy bajo de variabilidad explicada, sensiblemente inferior a los encontrados hasta ahora.
2. Si lo que se considera es la edad gestacional, y se le introduce, obligatoriamente, en el modelo, solo quedan como variables, que siguen determinando la variabilidad restante, el cociente AFP/Cr y el cociente Tf./B₂M, con un aporte de un 5, 15 y un 5, 55%, respectivamente. Se observa ahora que la aportación de las proteínas es ya mucho más baja no obstante sigue existiendo un aporte significativo.

4.5.6. *Resultados de la regresión múltiple para el peso al nacer*

Los resultados, que pueden observarse en la tabla resumen IV-f, son:

1. La variable que mejor determina el peso al nacer es la Beta-2-microglobulina, que es capaz de explicar un 15, 81% de la variabilidad del peso natal.
2. Después interviene la diferencia en edad entre las semanas en que se realizó la amniocentesis y las semanas en la que el niño nació, que parece lógico que también explique las diferencias existentes entre los distintos pesos al nacer.

3. Por tanto, en esta caso sólo la B-2-microglobulina determina algo importante y sustancial del peso al nacer, quedando las demás variables anuladas cuando se considera el tiempo que ha transcurrido entre la amniocentesis y el nacimiento.

4.6 Tablas y figuras de resultados

4.6.1. TABLA I

Descripción de los datos estadísticos más destacables de las distintas variables:

\bar{x} : media

D.S. o S: desviación estándar

E.S. o $S\sqrt{n}$: error estándar de la media

Valor o rango mínimo y máximo

Grupo I-a: Variables o parámetros no-protéicos que habitualmente se utilizan como indicadores de maduración fetal.

Grupo I-b: Porcentajes de las distintas proteínas amnióticas.

Grupo I-c,d,e,f: Cocientes de proteínas amnióticas entre sí y de proteínas / creatinina.

Grupo I-g: Concentraciones de cada proteína individualizadas, proteínas totales y creatinina amniótica

Variable	n	\bar{x}	s	s/\sqrt{n}	Valor mínimo	Valor máximo
EGA	131	36,122	3,272	0,2359	22,000	42,000
L/E	"	1,931	0,422	0,0369	1,000	4,000
Δ -450	"	15,007	17,683	1,5449	5,000	94,000
OSM	"	257,515	27,647	2,4155	210,000	376,000
DBP	"	8,747	0,455	0,0398	7,300	10,000
CITO	"	35,778	2,213	0,1933	27,000	39,000
PN	"	2,886	0,661	0,0578	0,750	4,570

TABLA I-a(1)

Variable	n	\bar{x}	s	s/\sqrt{n}	Valor minimo	Valor maximo
Ph	131	7,555	0,312	0,0272	6,500	8,500
EGN	"	38,335	2,682	0,2345	29,000	44,000
Ap-1	"	7,779	1,970	0,1721	1,000	9,000
Ap-5	"	8,786	1,060	0,0926	3,000	10,000
PF	"	1,137	0,346	0,0302	1,000	2,000
PM _a	"	1,137	0,346	0,0302	1,000	2,000

TABLA I-a(2)

Variable	n	\bar{x}	s	s/\sqrt{n}	Valor minimo	Valor maximo
% A ₂ M	131	0,022	0,003	0,0007	0,008	0,043
% IgG	"	3,281	3,001	0,2622	0,330	20,000
% Tf	"	12,160	3,280	0,2866	2,300	23,000
% Alb	"	69,293	10,767	0,9407	24,000	96,000
% AFP	"	0,021	0,089	0,0078	0,002	1,010
% A ₁ M	"	0,159	0,081	0,0071	0,030	0,480
% B ₂ M	"	0,173	0,123	0,0108	0,030	1,130

TABLA I-b

Variable	n	\bar{x}	s	s/\sqrt{n}	Valor mínimo	Valor máximo
PT/Cr	131	186,142	83,129	7,2630	74,000	470,000
A ₂ M/IgG	"	13,223	11,460	1,0013	0,620	82,300
A ₂ M/Tf	"	1,980	0,956	0,0835	0,830	8,400
A ₂ M/AIb	"	0,330	0,115	0,0100	0,110	0,700
A ₂ M/AFP	"	3,090	2,462	0,2151	0,120	15,000
A ₂ M/A ₁ M	"	161,445	70,171	6,1309	24,600	450,000
A ₂ M/B ₂ M	"	165,160	85,762	7,4930	22,000	550,000
A ₂ M/Cr	"	40,070	18,492	1,6156	16,800	109,000

TABLA I-c

Variable	n	\bar{x}	s	s/\sqrt{n}	Valor minimo	Valor maximo
IgG/Tf	131	0,297	0,300	0,026	0,020	1,470
IgG/A1b	131	0,054	0,084	0,007	0,004	0,860
IgG/AFP	131	0,446	0,528	0,046	0,018	3,300
IgG/A ₁ -M	131	23,202	23,111	2,019	1,800	139,000
IgG/B ₂ -M	131	25,494	33,319	2,911	0,960	312,000
IgG/Cr	131	6,302	8,313	0,726	0,600	56,000
Tf/A1b	131	0,174	0,048	0,004	0,022	0,300

TABLA I-d

Variable	n	\bar{x}	s	s/\sqrt{n}	Valor mínimo	Valor máximo
Tf/AFP	131	1,558	1,013	0,088	0,180	5,000
Tf/A ₁ -M	131	89,111	40,828	3,567	20,000	286,000
Tf/B ₂ -M	131	90,113	49,965	4,365	8,300	300,000
Tf/Gr	131	21,322	9,058	0,791	9,000	60,000
Alb/AFP	131	9,099	5,552	0,485	1,030	27,000
Alb/A ₁ -M	131	509,870	218,361	19,122	140,000	1167,000
Alb/B ₂ -M	131	506,443	225,775	19,726	125,000	1239,000

TABLA I-e

Variable	n	\bar{x}	s	s/\sqrt{n}	Valor mínimo	Valor máximo
Alb/Cr	131	131,214	63,675	5,991	56,000	513,000
AFP/A ₁ -M	131	77,253	57,823	5,052	10,000	336,000
AFP/B ₂ -M	131	85,983	77,440	6,766	8,600	379,000
AFP/Cr	131	21,670	19,336	1,733	2,160	94,300
A ₁ -M/B ₂ -M	131	1,189	0,834	0,077	0,290	8,860
A ₁ -M/Cr	131	0,305	0,202	0,017	0,093	1,140
B ₂ -M/Cr	131	0,325	0,273	0,023	0,080	1,550

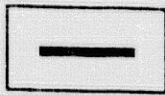
TABLA I-f

Variable	n	\bar{x}	s	s/\sqrt{n}	Valor mínimo	Valor máximo
A ₂ -M	131	763,888	205,716	17,973	370,000	1500,000
IgG	131	121,358	130,537	11,405	20,000	720,000
Tf	131	409,421	90,230	7,888	100,000	780,000
Alb	131	2437,245	698,405	61,019	1200,000	4600,000
AFP	131	398,737	318,310	27,810	52,000	2290,000
A ₁ -M	131	5,599	2,373	0,251	2,500	15,000
B ₂ -M	131	5,941	3,968	0,346	1,600	20,830
Cr	131	20,885	5,584	0,487	9,000	35,000
PT	131	5353,885	982,030	85,304	2000,000	8000,000

TABLA I-9

4.6.2 TABLA II

Matriz de coeficientes de correlación entre variables:



Coefficiente de correlación escaso o sin interés estadístico.

Grupo II-a: Coeficientes de correlación entre parámetros no-protéicos entre sí.

Grupo II-b: Coeficientes de correlación entre porcentajes de proteínas amnióticas y parámetros no-protéicos.

Grupo II-c,d,e,f: Coeficientes de correlación entre cocientes protéicos amnióticos y parámetros no-protéicos.

Grupo II-g: Coeficientes de correlación entre concentraciones amnióticas protéicas y creatinínicas y parámetros no-protéicos.

Variable	E.G.A.	L/E	Δ-450	DBP	CITO.	P.N.	EGN	AP-1
DBP	0,236	—	—	—	—	—	—	—
CITO.	0,301	—	—	—	—	—	—	—
PN	0,338	—	—	0,501	—	—	—	—
EGN	0,659	—	—	0,264	0,312	0,404	—	—
AP-1	0,483	—	—	—	—	0,285	0,450	—
AP-5	0,453	—	—	—	—	0,317	0,461	—
PF	—	—	0,435	—	—	—	0,241	—
PM	—	—	—	—	—	—	—	—

TABLA - II-a

Variable	E.G.A.	L/E	Δ -450	DBP	CITO.	P.N.	E.G.N.	Ap-1
% A ₂ M	—	—	—	—	—	—	—	—
% IgG	—	—	0,340	—	—	—	—	—
% Tf	—	—	—	—	—	—	—	—
% Alb	—	—	—	—	—	—	—	—
% A.F.P.	—	—	—	—	—	—	—	—
% A ₁ M	—0,310	—	—	—	—	—	—0,308	—
% B ₂ M	—0,401	—	—	—	—	—	—0,317	—

TABLA-II-b

Variable	E.G.A.	L/E	Δ-450	DBP	CITO.	P.N.	E.G.N.	Ap-1
PT/Cr	—	—	0,333	—	—	—	—	—
A ₂ M/IgG	—	—	—	—	—	—	—	—
A ₂ M/Tf	—	—	—	—	—	—	—	—
A ₂ M/AIb	—	—	—	—	—	—	—	—
A ₂ M/AFP	—	—	—	—	—	—	—	—
A ₂ M/A ₁ M	0,312	—	—	—	—	—	0,305	—
A ₂ M/B ₂ M	0,394	—	—	—	—	—	0,330	—
A ₂ M/Cr	—	—	—	—	—	—	—	—

TABLA - II-c

Variable	E.G.A.	L/E	Δ -450	DBP	CITO.	P.N.	E.G.N.	Ap-1
IgG / Tf	—	—	0,333	—	—	—	—	—
IgG / Alb	—	—	—	—	—	—	—	—
IgG / AFP	—	—	—	—	—	—	—	—
IgG / A ₁ M	—	—	—	—	—	—	—	—
IgG / B ₂ M	—	—	—	—	—	—	—	—
IgG / Cr	—0,288	—	0,397	—	—	—	—	—
Tf / Alb	—	—	—	—	—	—	—	—
Tf / AFP	—	—	—	—	—	—	—	—

TABLA-II-d

Variable	EG A	L/E	Δ -450	DBP	CITO	P.N.	E.G.N.	Ap-1
Tf / Cr	—	—	0,290	—	—	—	—	—
Tf / A ₁ M	0,318	—	—	—	—	—	0,265	—
Tf / B ₂ M	0,389	—	—	—	—	0,251	0,323	—
Alb / AFP	—	—	—	—	—	—	—	—
Alb / A ₁ M	—	—	—	—	—	—	—	—
Alb / B ₂ M	0,351	—	—	—	—	0,250	—	—
Alb / Cr	—	—	0,337	—	—	—	—	—

TABLA-II-e

Variable	EGA	L/E	$\Delta-450$	DBP	CITO.	P.N.	EGN	Ap-1
AFP/A ₁ M	—	—	—	—	—	—	—	—
AFP/B ₂ M	—	—	—	—	—	—	—	—
AFP/Gr	- 0,367	—	—	- 0,316	—	—	—	—
A ₁ M/B ₂ M	—	—	—	—	—	—	—	—
A ₁ M/Gr	- 0,355	—	0,281	—	- 0,294	—	- 0,252	—
B ₂ M/Gr	- 0,495	—	—	- 0,266	—	- 0,290	- 0,343	- 0,282
A ₂ M	—	—	—	—	—	—	—	—

TABLA-II-f

Variable	E.G.A.	L/E	Δ-450	DBP	CITO.	P.N.	E.G.N.	Ap-1
IgG	-0,276	—	0,399	—	—	—	—	—
Tf	—	—	—	—	—	—	—	—
Alb	-0,416	—	0,380	—	—	-0,243	—	—
AFP	-0,461	—	—	-0,320	-0,355	—	—	—
A ₁ M	-0,466	—	0,296	—	—	—	-0,341	-0,279
B ₂ M	-0,630	—	—	-0,279	—	-0,397	-0,372	-0,327
Cr	—	-0,310	-0,250	—	—	—	—	—
PT	-0,274	—	0,294	—	—	-0,306	—	—

TABLA-II-9

4.6.3. TABLA III

Datos estadísticos básicos de los parámetros protéicos amnióticos, comparando población no patológico y patológico:

p: grado de significación estadística

fexp: f. experimental o fuerza con la que se correlaciona.

g.l: grados de libertad.

Grupo III-a: Porcentajes protéicos no amnióticos.

Grupo III-b,c,d,e,f: Cocientes protéicos amnióticos.

Grupo II-g,h: Concentraciones protéicas amnióticas

Variable	No Patologico			Patologico			fexp	g.l.	signif.
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s			
% A ₂ M.	113	0,023	0,008	18	0,021	0,009	0,99	129	N.S.
% Tf.	"	12,253	3,250	"	11,575	3,501	0,82	129	N.S.
% Alb.	"	68,893	11,128	"	71,806	7,932	1,07	129	N.S.
% A.F.P.	"	0,022	0,096	"	0,010	0,06	0,53	129	N.S.
% A ₁ M.	"	0,151	0,071	"	0,204	0,121	1,81	18,92	N.S.
% B ₂ M.	"	0,168	0,123	"	0,204	0,125	1,16	129	N.S.
% IgG	"	2,947	2,513	"	5,383	4,676	2,16	13,59	P<0,05
P.T./Cr	"	174,98	69,39	"	256,22	122,85	2,74	18,76	P<0,02

TABLA-III-a

Variable	No Patologico			Si Patologico			fexp.	g.l.	signif.
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s			
A ₂ M/IgG	113	13,96	11,66	18	8,63	9,13	1,85	129	N.S.
A ₂ M/Tf	"	1,96	0,81	"	2,11	1,64	0,38	18,33	N.S.
A ₂ M/Alb	"	0,34	0,11	"	0,30	0,12	1,45	129	N.S.
A ₂ M/A.F.P.	"	3,13	2,47	"	2,84	2,44	0,47	129	N.S.
A ₂ M/A ₁ M	"	167,01	70,25	"	126,49	60,34	2,31	129	P<0,05
A ₂ M/B ₂ M	"	171,10	87,38	"	127,89	65,08	2,01	129	P<0,05
A ₂ M/Cr.	"	38,58	17,31	"	49,52	23,07	2,37	129	P<0,05

TABLA - III-b

Variable	No Patologico			Si Patologico			fexp.	g.l.	signif.
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s			
IgG/Tf	113	0,26	0,252	18	0,531	0,452	2,49	18,72	P<0,05
IgG/A1b	"	0,051	0,086	"	0,076	0,069	1,17	129	N.S.
IgG/A.F.P.	"	0,411	0,503	"	0,664	0,634	1,19	129	N.S.
IgG/A1M	"	21,92	22,67	"	31,29	24,86	1,61	129	N.S.
IgG/B2M	"	25,12	35,30	"	27,87	16,55	0,32	129	N.S.
IgG/Cr	"	5,65	6,27	"	14,04	14,32	2,45	18,05	P<0,05

TABLA - III-c

Variable	No Patologico			Patologico			fexp.	g.l.	signif.
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s			
Tf/A1b	113	0,176	0,047	18	0,161	0,052	1,24	129	N.S.
Tf/A.F.P.	"	1,58	1,02	"	1,44	0,97	0,55	129	N.S.
Tf/A ₁ M	"	92	40,26	"	70,99	40,83	2,05	129	P<0,05
Tf/B ₂ M	"	92,93	49,93	"	72,44	47,79	1,63	129	N.S.
Tf/Cr.	"	20,43	8,14	"	26,94	12,35	2,16	19,42	P<0,05

TABLA - III-d

Variable	No Patologico			Patologico			fexp	g.l.	signif.
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s			
Alb/A.F.R.	113	9,01	5,37	18	9,65	6,73	0,45	129	N.S.
Alb/A ₁ M	"	513,88	202,38	"	484,78	309,34	0,39	19,38	N.S.
Alb/B ₂ M	"	513,08	219,66	"	464,86	264,22	0,84	129	N.S.
Alb/Cr.	"	122,83	61,08	"	153,84	89,33	2,80	19,61	N.S.

TABLA - III-e

Variable	No Patologico			Patologico			fexp	g.l.	signif.
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s			
A.F.P./A ₁ M	113	78,68	58,64	18	68,04	53,07	0,71	129	N.S.
A.F.P./B ₂ M	"	87,58	78,74	"	75,94	69,94	0,59	129	N.S.
A.F.P./Cr.	"	20,77	18,88	"	27,32	24,92	1,31	129	N.S.
A ₁ M/B ₂ M	"	1,21	0,92	"	1,09	0,64	0,51	129	N.S.
A ₁ M/Cr.	"	0,28	0,18	"	0,46	0,24	3,08	20,21	P<0,005

TABLA - III-f

Variable	No Patologico			Patologico			fexp	g.l.	signif.
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s			
B ₂ M/Cr.	113	0,291	0,229	18	0,529	0,415	2,38	18,7	P<0,05
A ₂ M.	"	753,9	195,6	"	822,8	259,3	1,32	129	N.S.
IgG.	"	104,3	107,6	"	228,2	200,1	2,57	18,16	P<0,02
Tf.	"	402,5	30,6	"	452,7	130,3	1,58	19,11	N.S.
Alb.	"	2354,9	637	"	2954,4	853,3	2,86	20,13	P<0,01

TABLA-III-9

Variable	No Patologico			Patologico			fexp	g.l.	signif.
	n	\bar{x}	s	n	\bar{x}	s			
A.F.P.	113	392,8	323,6	18	436,3	288,3	0,54	129	N.S.
A ₁ M.	"	5,24	2,57	"	7,83	3,69	2,37	19,71	P<0,01
B ₂ M.	"	5,55	3,64	"	8,40	5,06	2,20	19,90	P<0,05
Cr.	"	21,29	5,47	"	18,33	5,80	2,12	129	P<0,05
P.T.	"	3457,2	900,8	"	4161,1	1255,6	2,29	19,88	P<0,05

TABLA - III-h

4.6.4. TABLA IV

Regresión múltiple para las variables -parámetros no-protéicos frente a las proteínas amnióticas:

R: Coeficiente de regresión múltiple.

R^2 : Coeficiente de determinación.

AR^2 : Porcentaje de determinación que explica cada variable.

D.E.G.: Diferencia de edad gestacional entre Amniocentesis y Nacimiento.

Grupo IV-a: Edad gestacional en el momento de la amniocentesis frente a proteínas amnióticas.

Grupo IV-b: Cociente L/E frente a las proteínas amnióticas.

Grupo IV-c: Delta-450 frente a proteínas amnióticas.

Grupo IV-d: Citología del L.A. frente a proteínas amnióticas.

Grupo IV-e₁,e₂: Diámetro biparietal fetal frente a proteínas amnióticas.

Grupo IV-f: Peso natal frente a proteínas amnióticas.

Paso	Variable	R.	R ²	ΔR^2	f exp.	g.l.
1	B ₂ M.	0,6305	0,3975	0,3975	85,10	(1,129)
2	A.F.P.	0,7325	0,5365	0,1391	38,41	(2,128)
3	A.F.P./A ₁ M.	0,7487	0,5605	0,0240	6,93	(3,127)
4	% Alb.	0,7623	0,5812	0,0207	6,22	(4,126)
5	Tf./Cr.	0,7735	0,5983	0,0171	5,32	(5,125)

TABLA IV (a)

Paso	Variable	R.	R. ²	$\Delta R.^2$	f exp.	g.l.
1	Cr.	0,3102	0,0963	0,0963	13,73	(1,129)
2	Alb/ β_2 M.	0,3968	0,1574	0,0612	9,29	(2,128)
3	Alb/Tf.	0,4434	0,1966	0,0392	6,19	(3,127)

TABLA IV (b)

Paso	Variable	R.	R ²	ΔR^2	f _{exp.}	g.l.
1	P. F.	0,4352	0,1894	0,1894	30,14	(1,129)
2	IgG.	0,5130	0,2631	0,0737	12,80	(2,128)
3	A ₂ M/A.F.P.	0,5572	0,3105	0,0474	8,72	(3,127)

TABLA IV (c)

Paso	Variable	R.	R ²	ΔR^2	f _{exp.}	g.l.
1	A.F.P.	0,3552	0,1262	0,1262	18,62	(1,129)
2	Alb/AFP	0,4275	0,1827	0,0566	8,85	(2,128)
3	P.T.	0,4641	0,2154	0,0327	5,29	(3,127)
4	A ₁ M/Cr.	0,4968	0,2468	0,0314	5,25	(4,126)

TABLA IV (d)

Paso	Variable	R.	R ² .	Δ.R.	fexp.	g.l.
1	A.F.P.	0,3209	0,1030	0,1030	14,80	(1,129)
2	Tf/B ₂ M.	0,3982	0,1585	0,0556	8,45	(2,128)

TABLA IV (e1)

Paso	Variable	R.	R ²	ΔR ²	f _{exp.}	g.l.
1	E.G.A.	0,2863	0,0819	0,0819	11,51	(1,129)
2	A.F.R./C.r.	0,3653	0,1335	0,0515	7,61	(2,128)
3	Tf/B ₂ M	0,4111	0,1690	0,0355	5,43	(3,127)

TABLA IV (e2)

Paso	Variable	R.	R ²	ΔR^2	f _{exp.}	g.l.
1	B ₂ M.	0.3976	0.1581	0.1581	24.21	(1.129)
2	D.E.G.	0.4345	0.1889	0.0307	4.84	(2.128)

TABLA IV (f)

4.6.5. FIGURAS 33 a 52

Curvas, seleccionadas por su correlación significativa, de proteínas amnióticas versus parámetros de maduración fetal.

- Figuras 33 a 38: B2-microglobulina.
- Figuras 39 a 43: A1-microglobulina.
- Figuras 44 a 45: Alfafetoproteína.
- Figuras 46 a 49: Albúmina.
- Figuras 50 a 52: Proteínas totales.

Ap: Test de Apgar.

Cor: Correlación.

N: Número de casos.

Ap-1

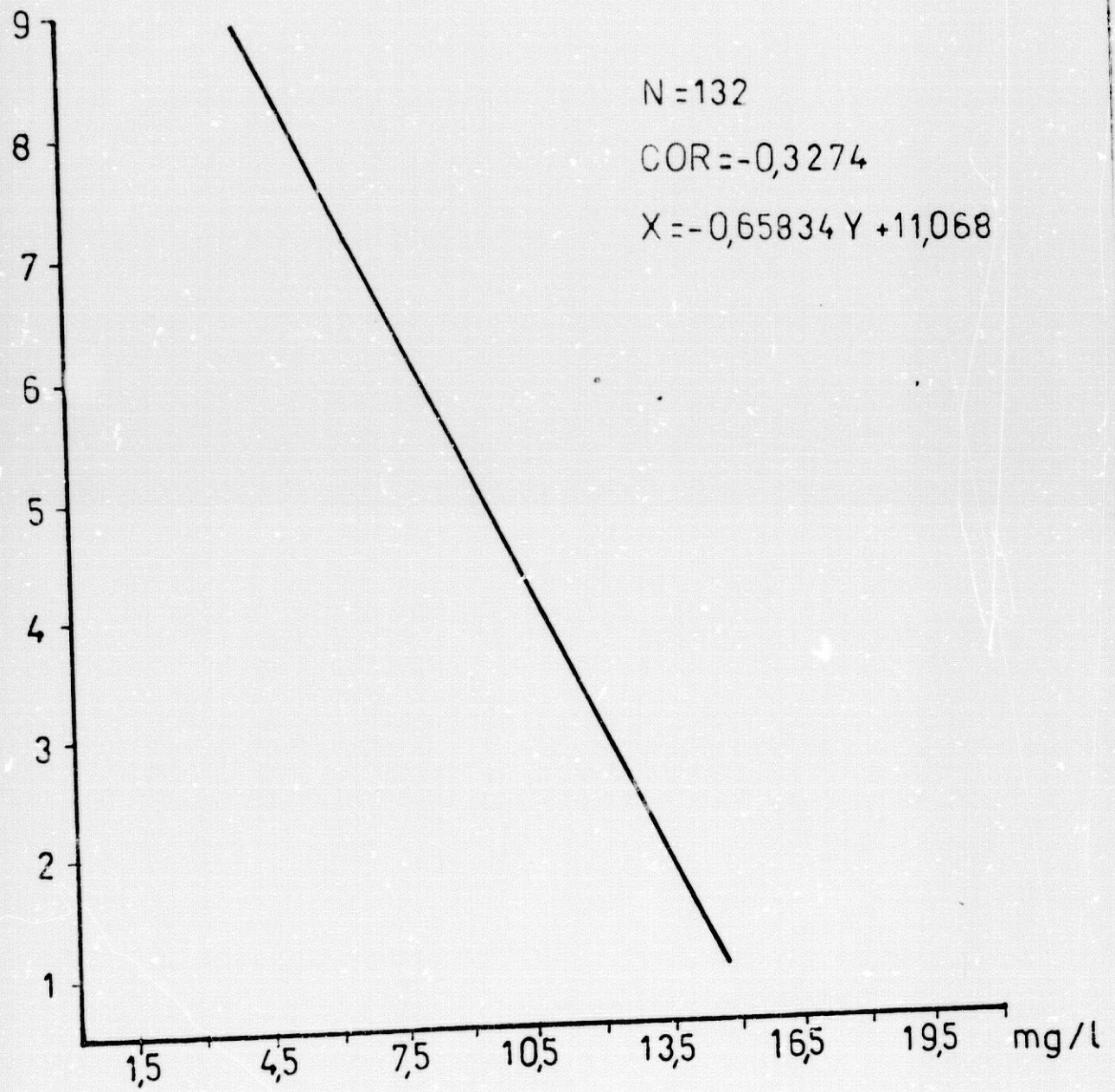


FIG.33 B₂M

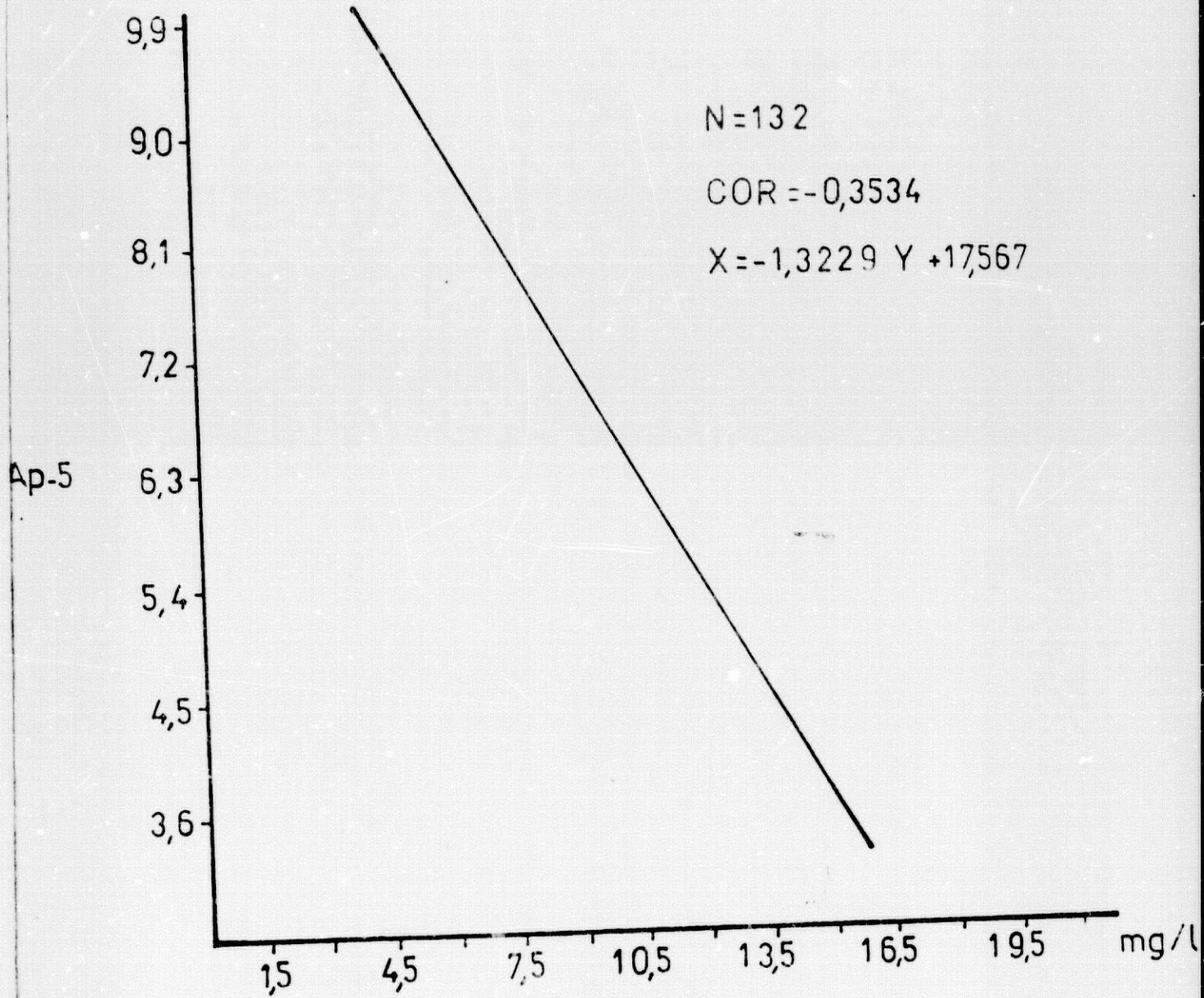


FIG. 34 B₂M

N = 132

COR = -0,2768

X = -2,5934 Y + 26,839

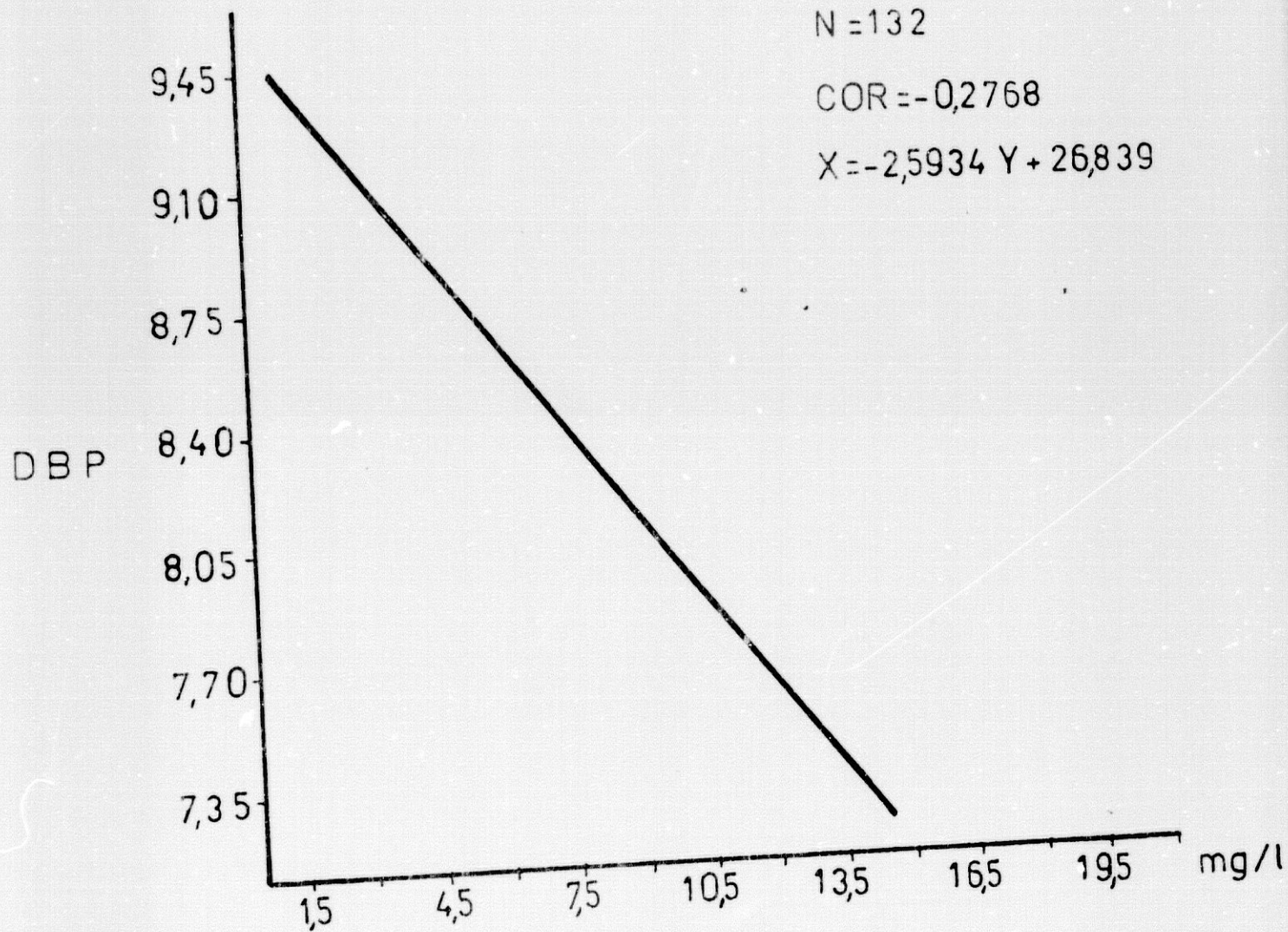


FIG.35 B₂M

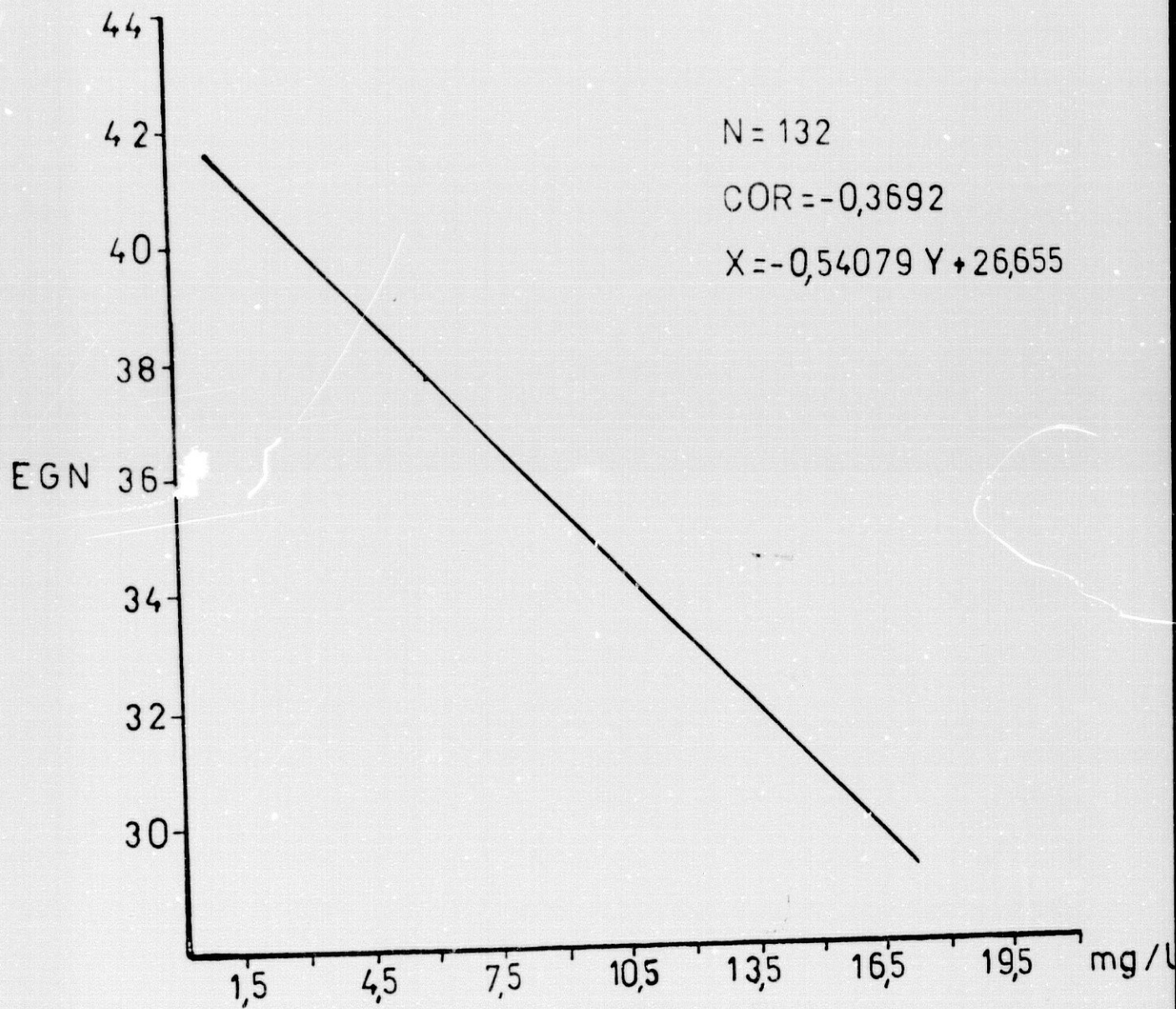


FIG.36 B₂M

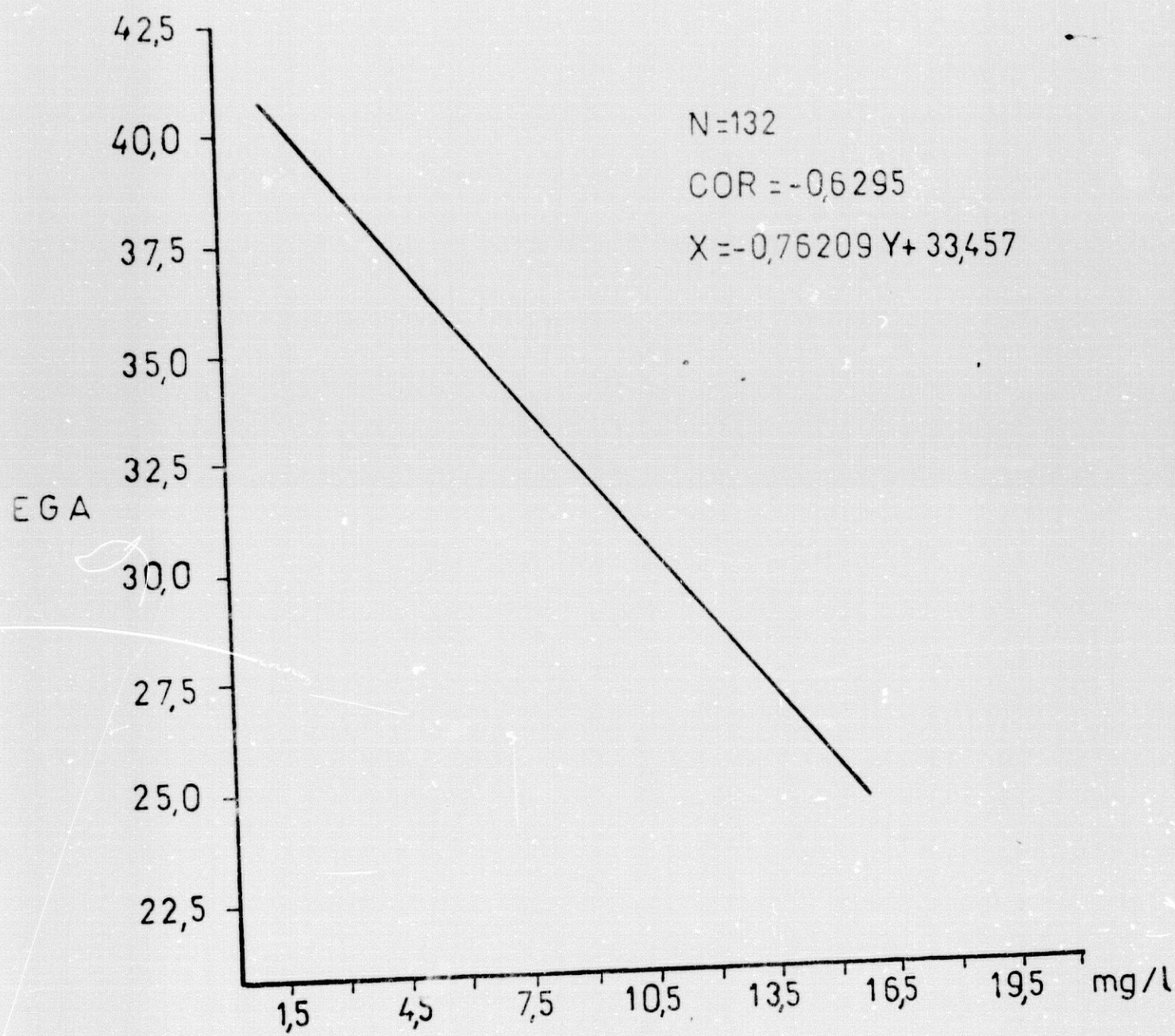


FIG.37 B₂M

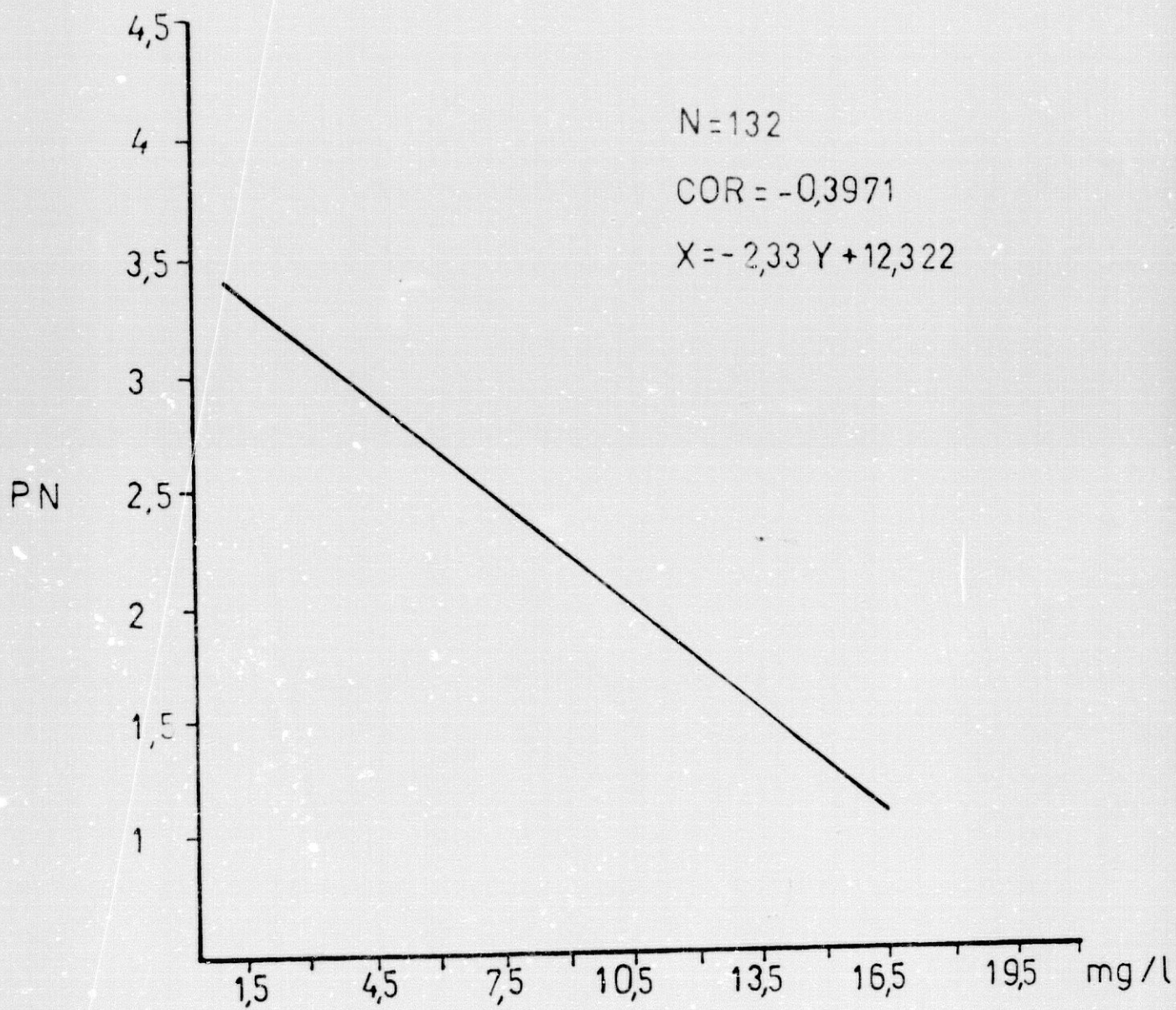


FIG.38 B₂ M

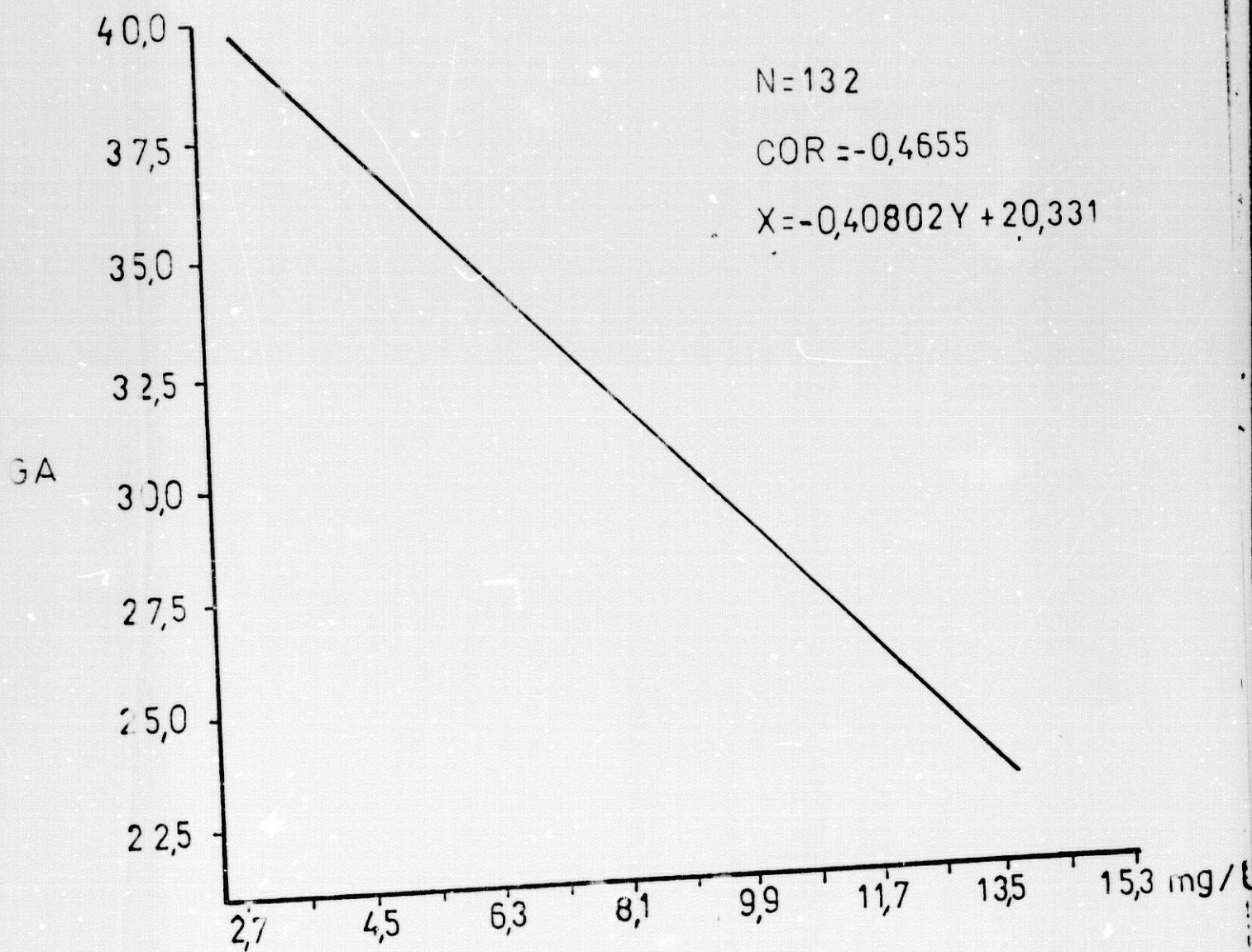


FIG. 39 A₁M

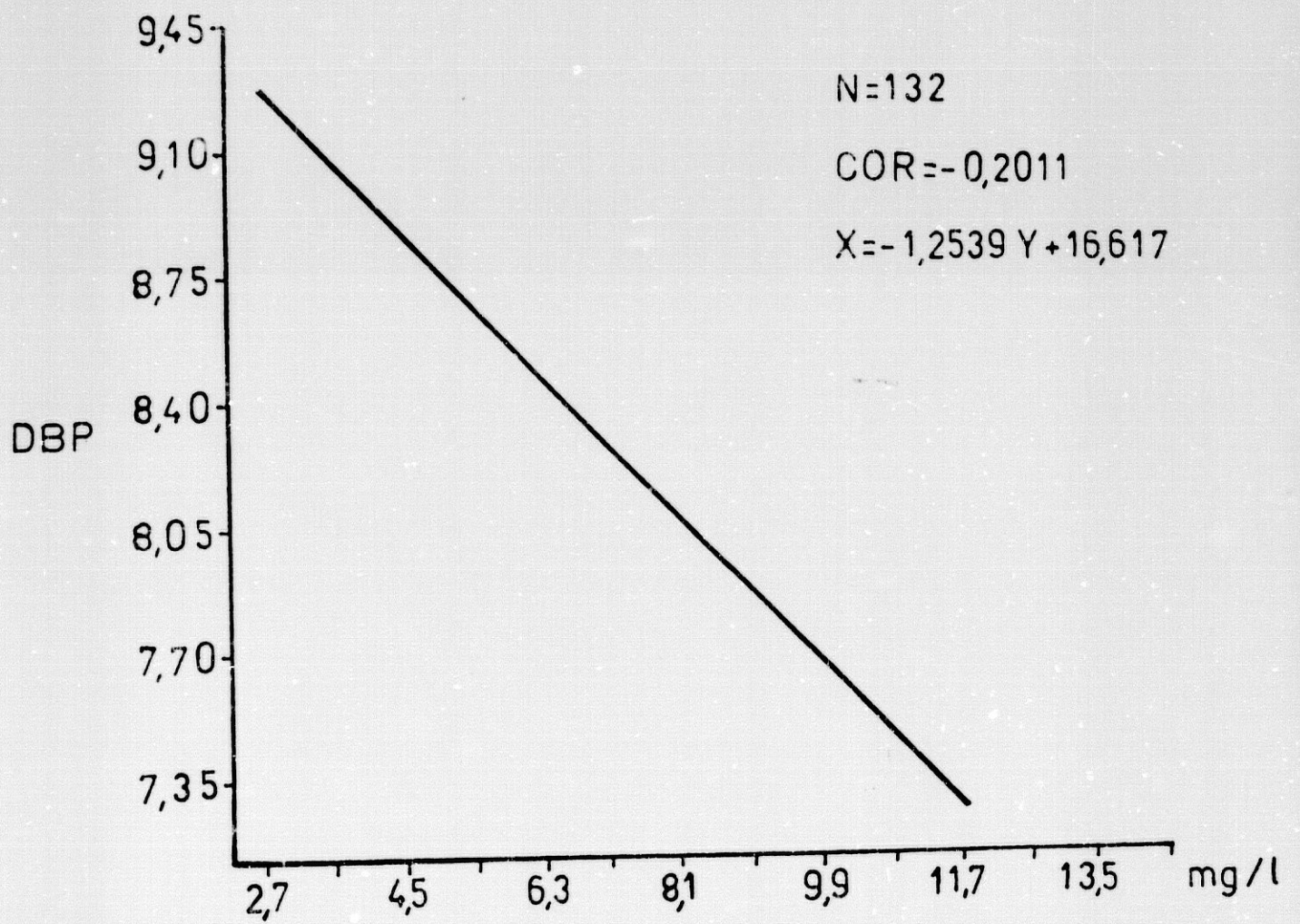


FIG. 40 A₁M

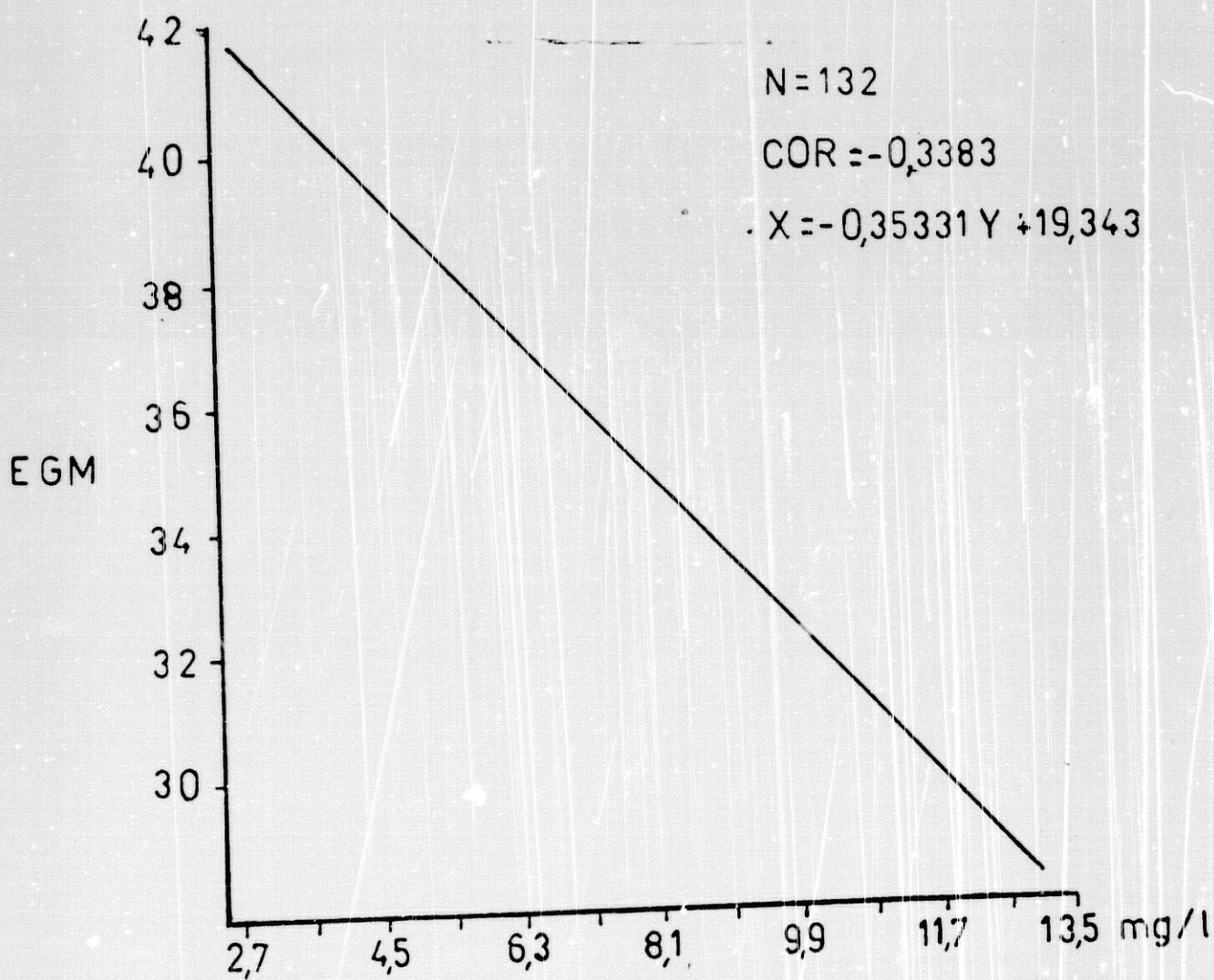


FIG. 41 A₁M

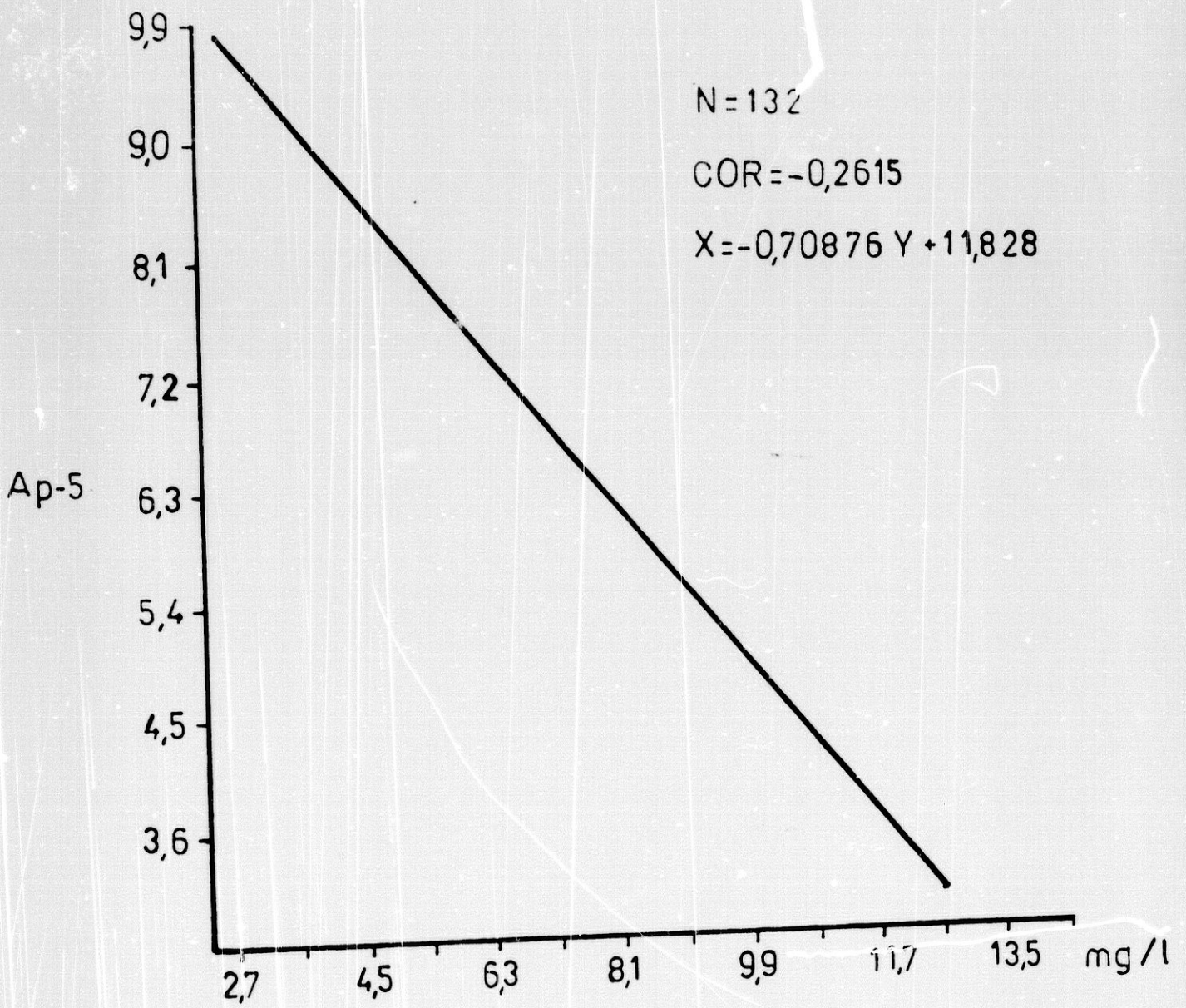


FIG.42.A₁M

Ap-1

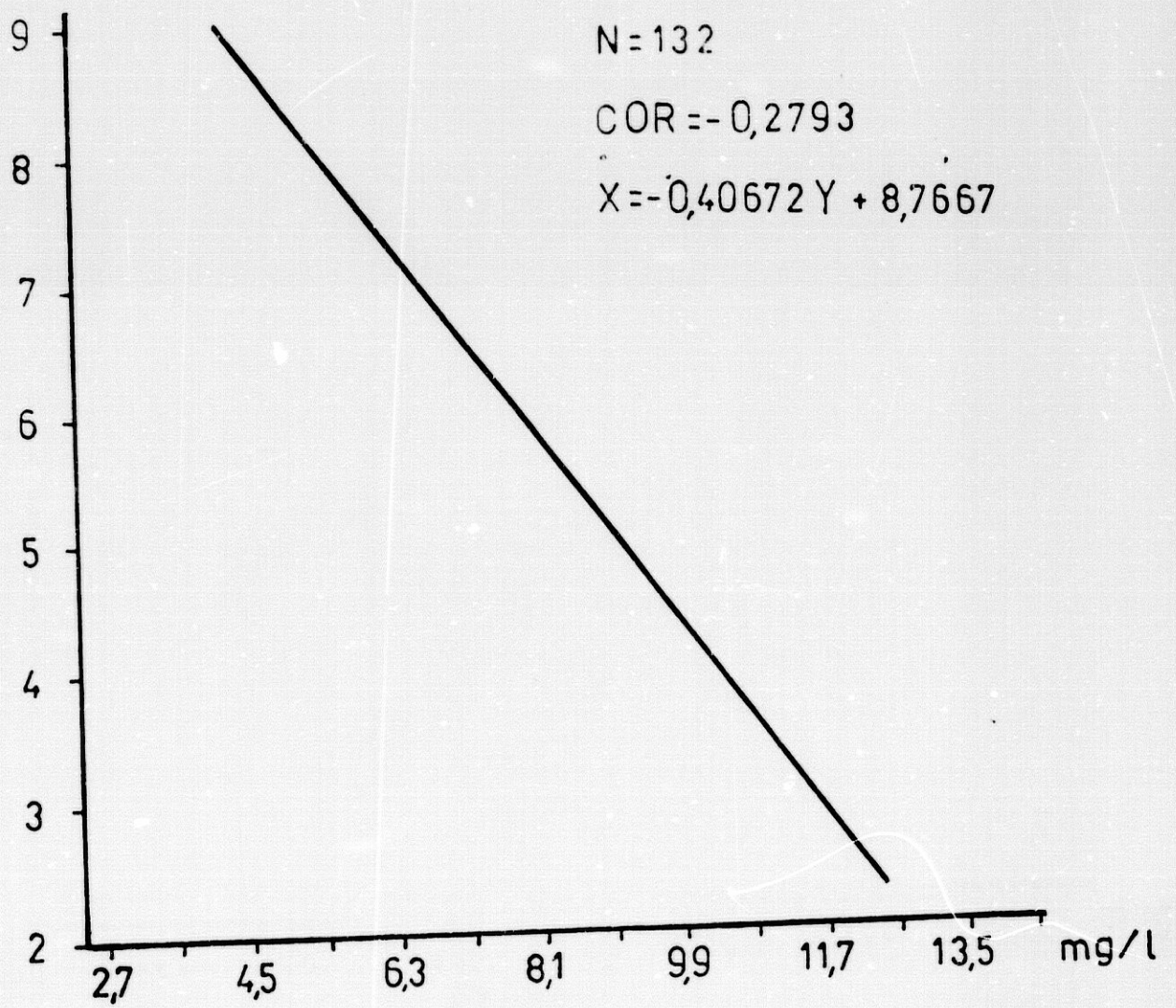


FIG.43. A₁M

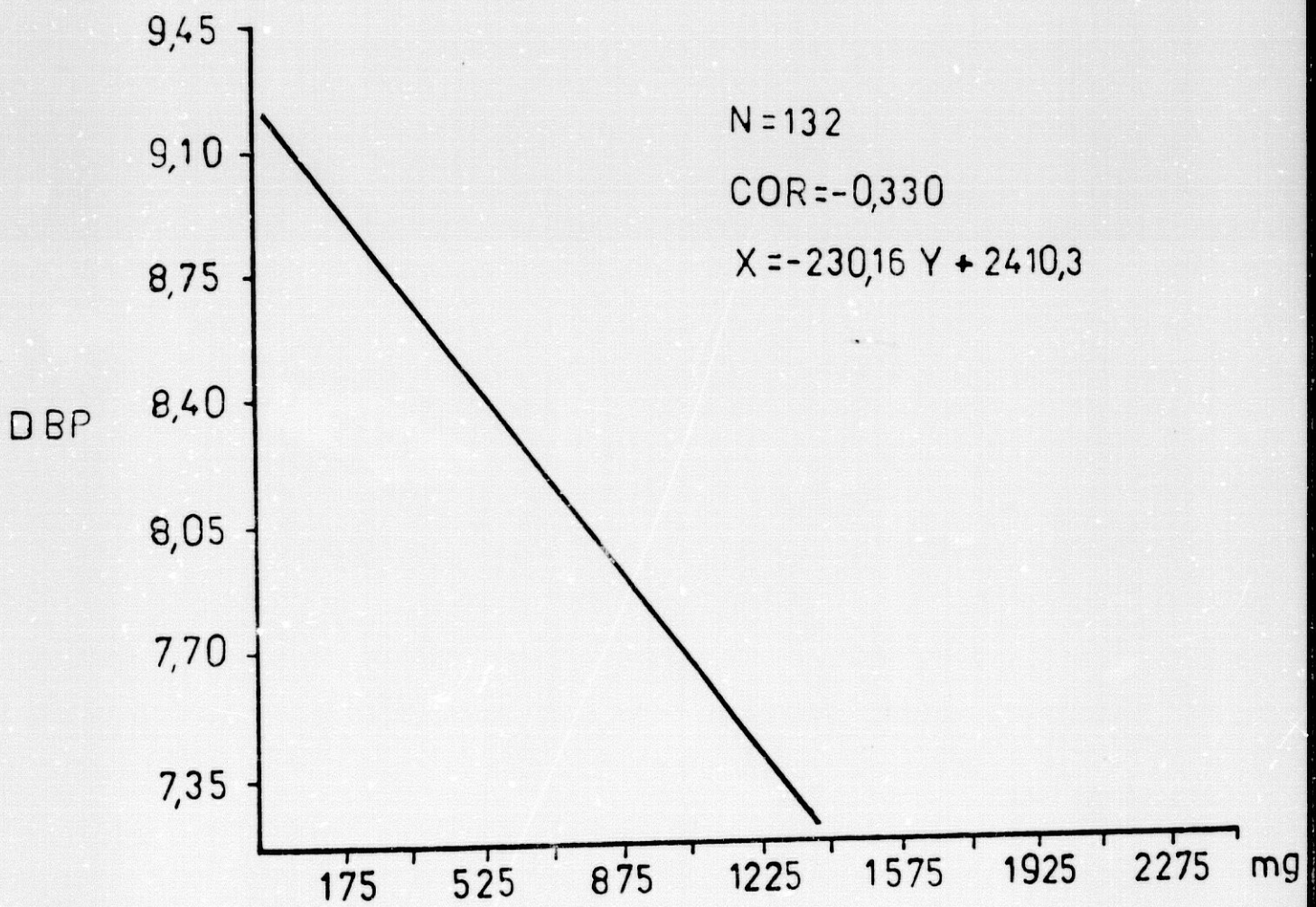


FIG.44. AFP

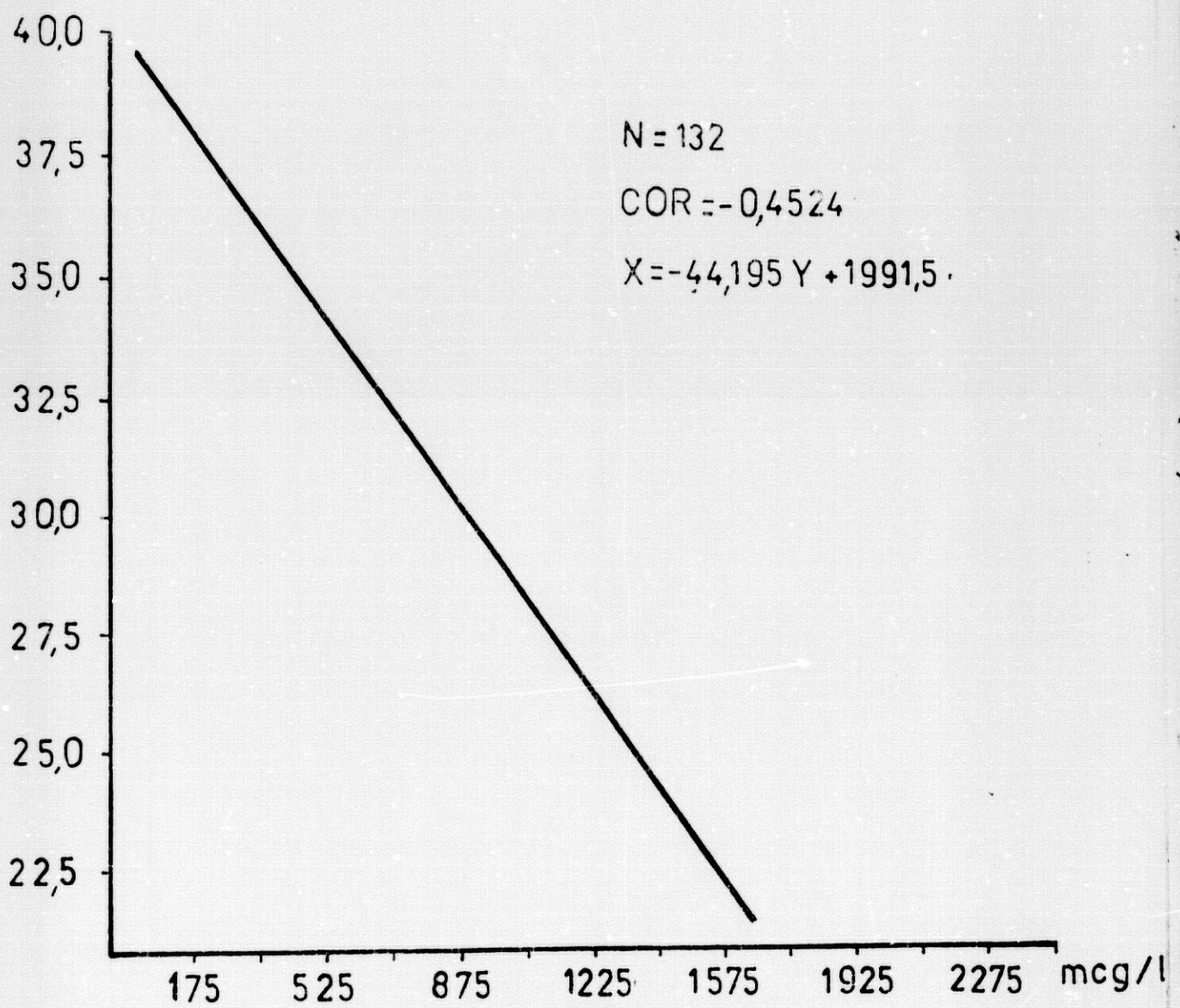


FIG.45.AFP

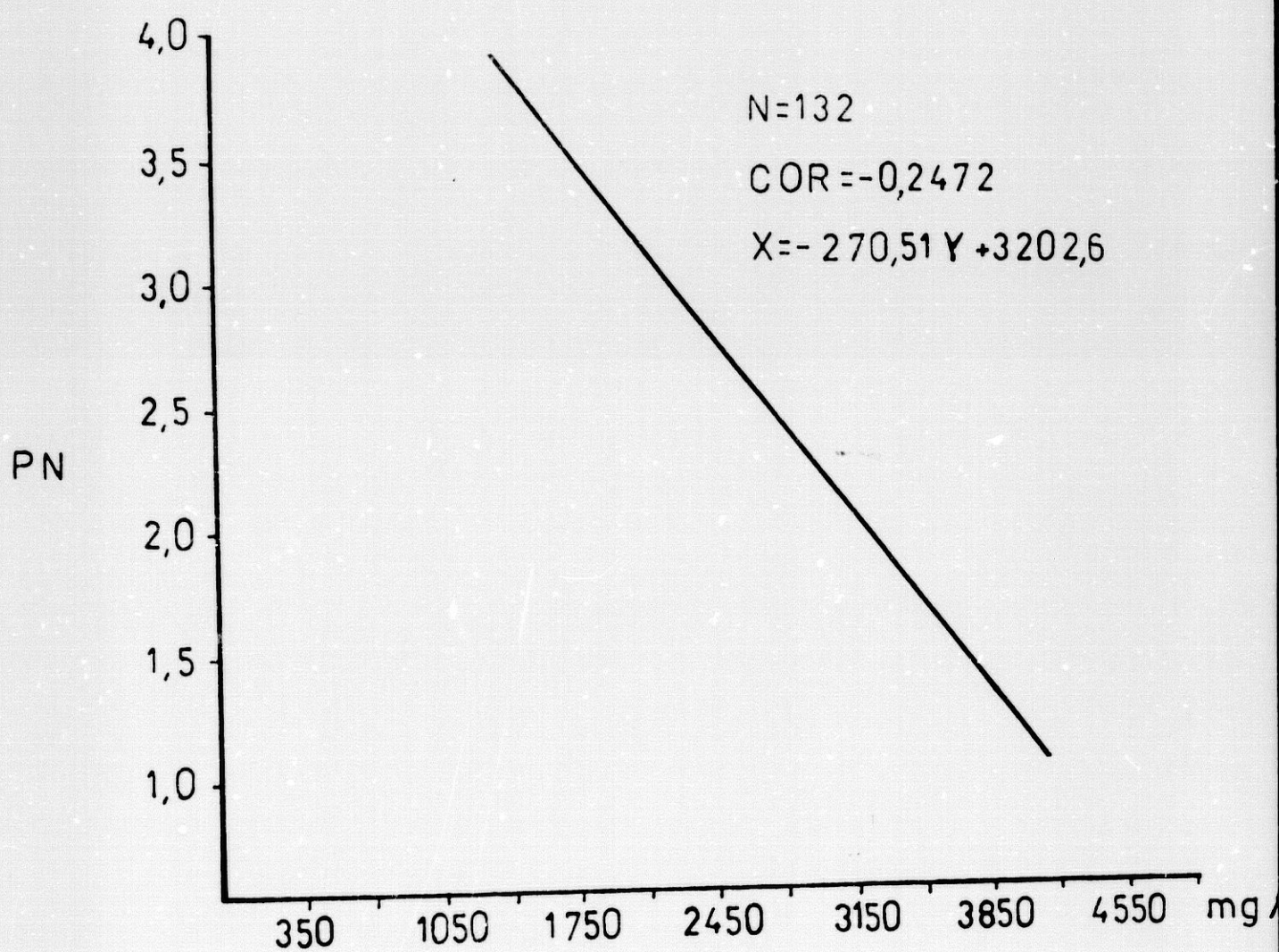


FIG.46.A1b

GA

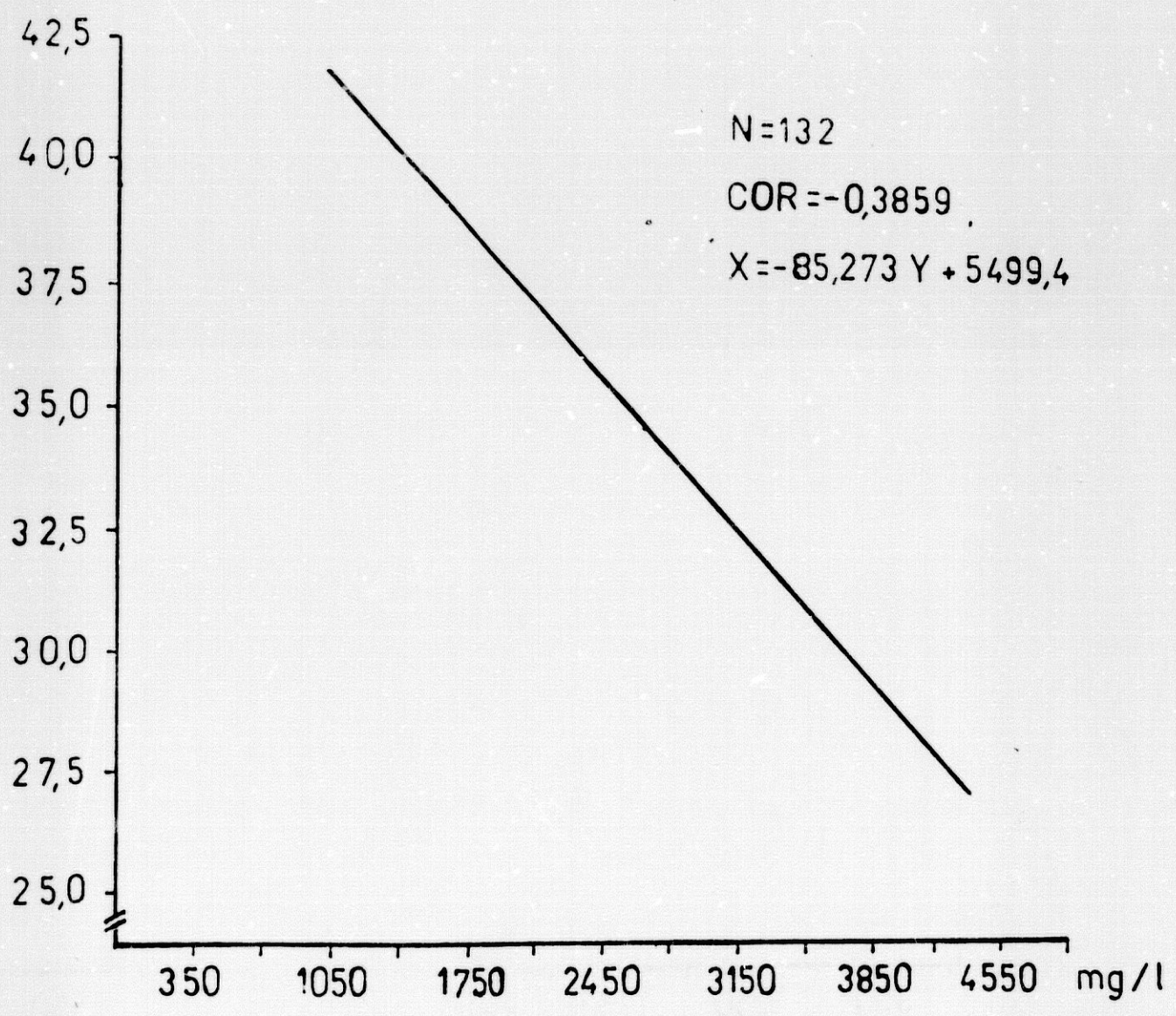


FIG. 47. Alb

Ap-1

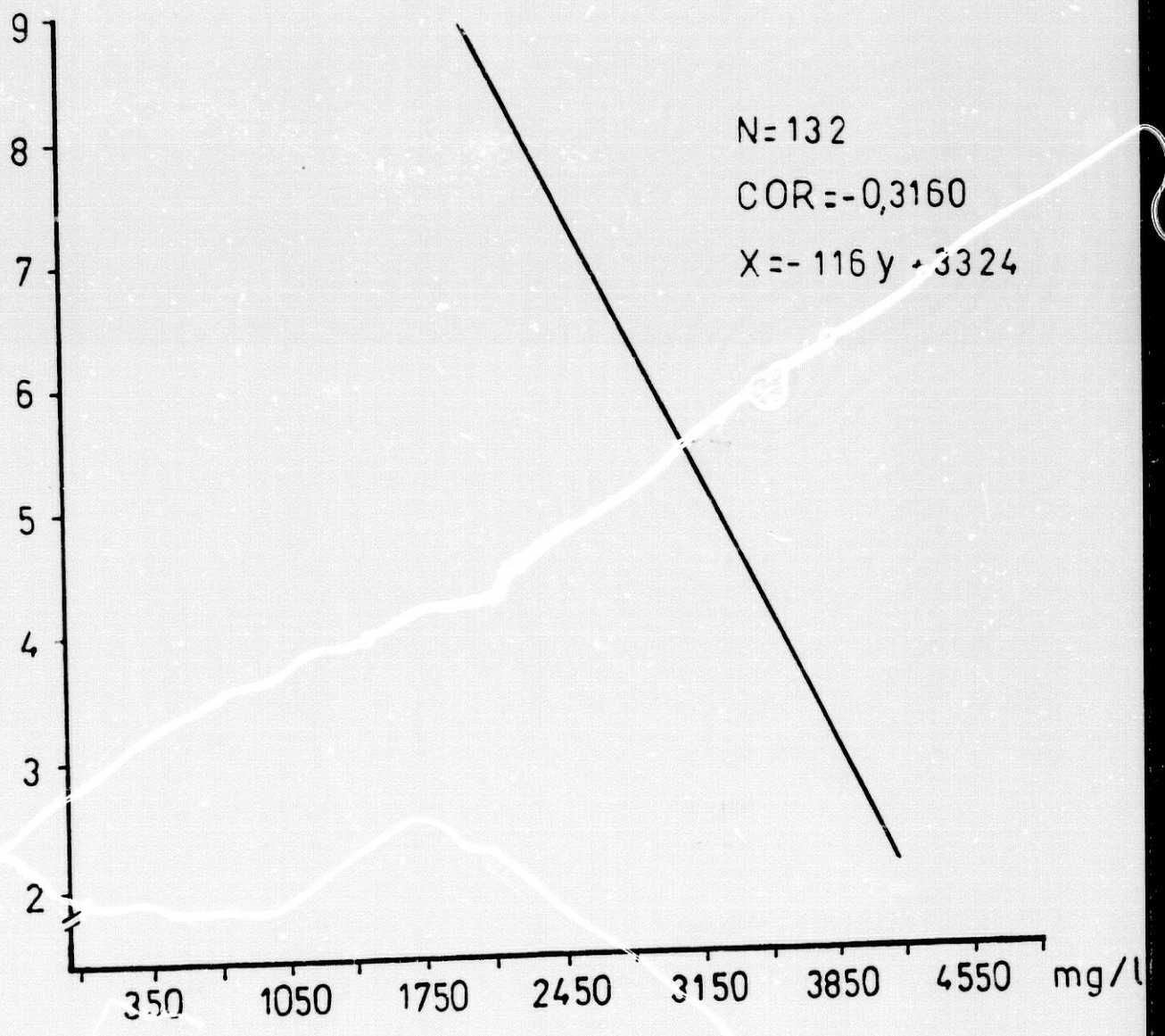


FIG.48. Alb

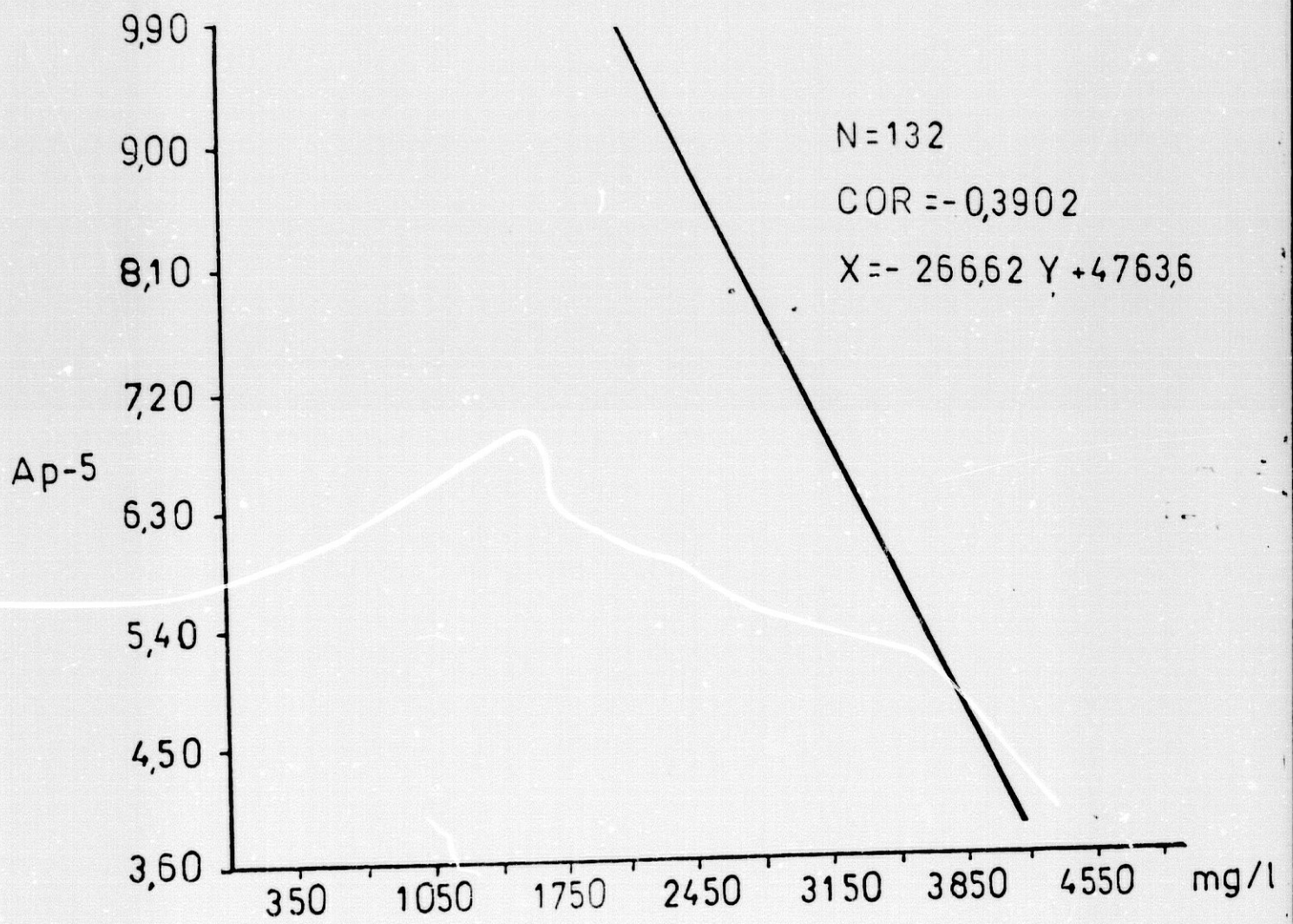


FIG. 49: Alb

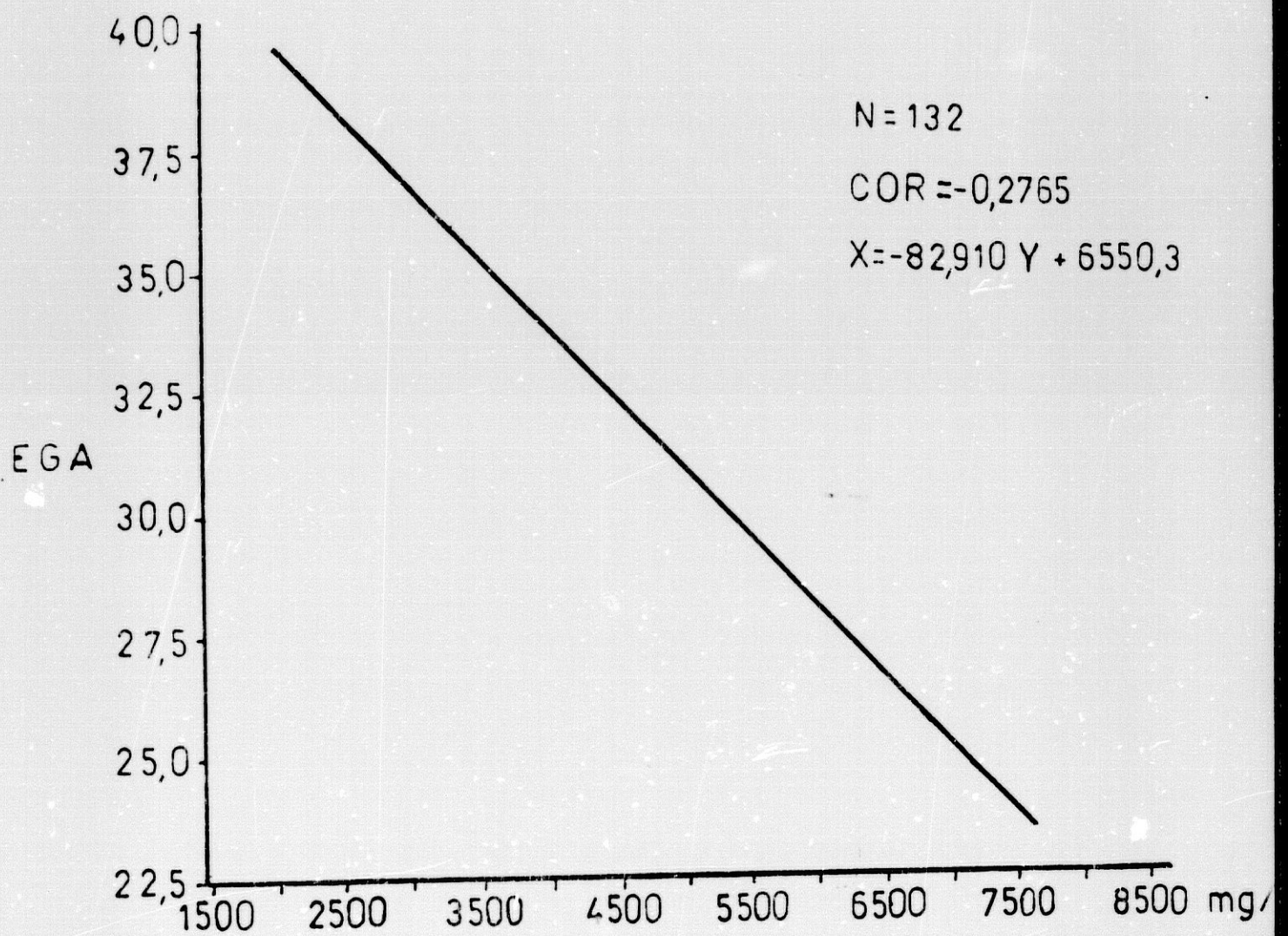


FIG.50.PT

N

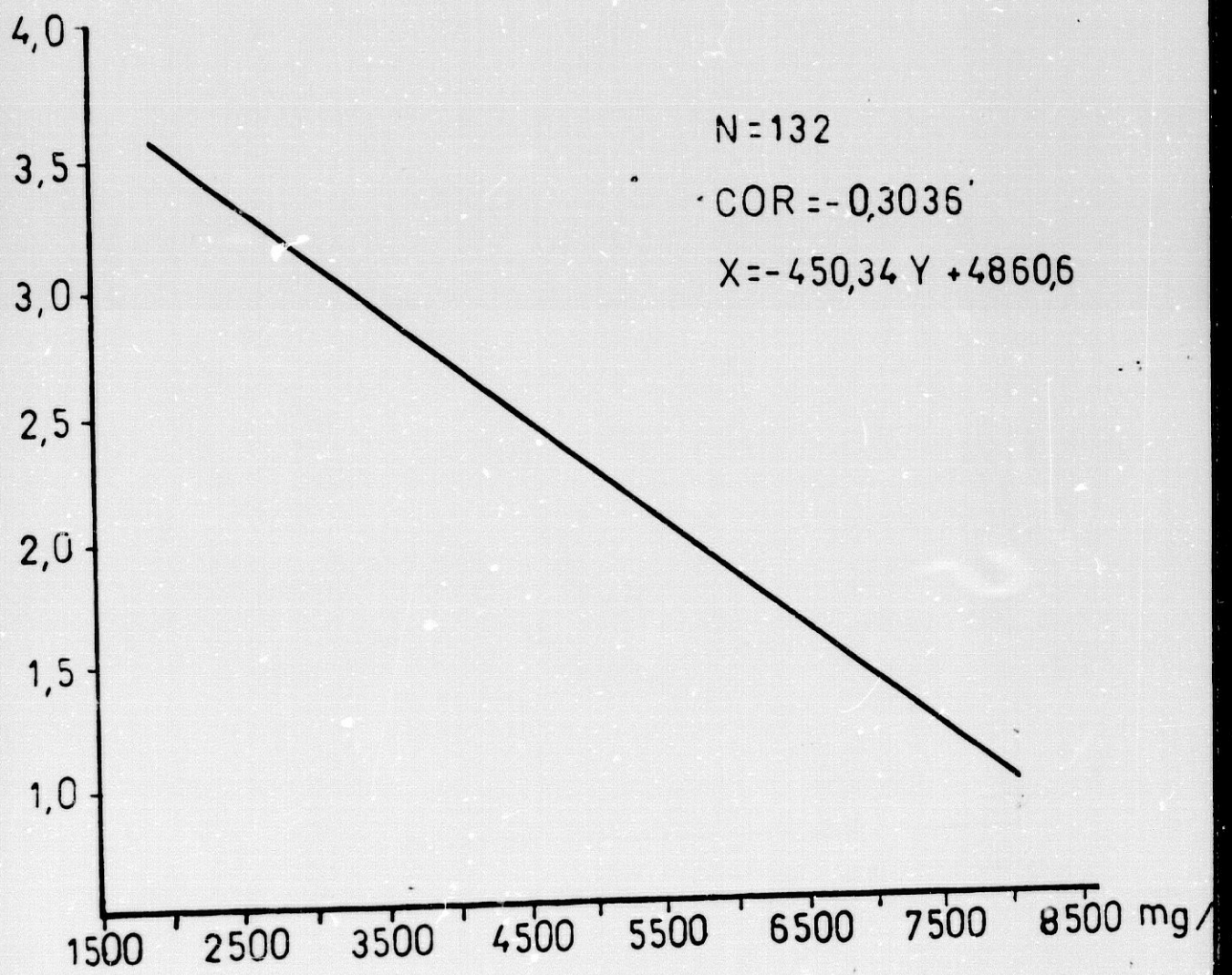


FIG.51.PT

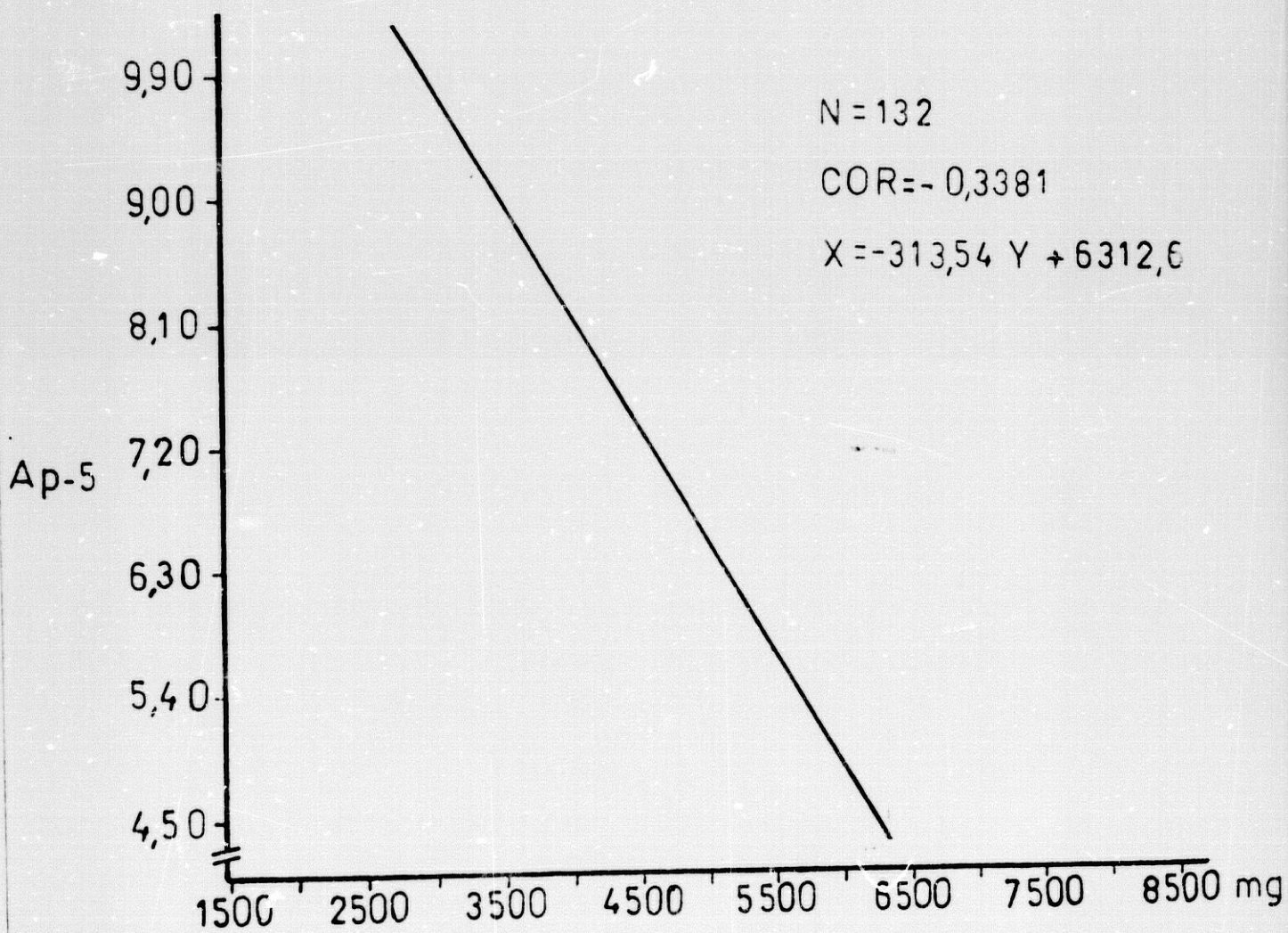


FIG.52.PT

5. Discusión

5.1. VALORACIÓN DE LA RELACIÓN ENTRE EDAD GESTACIONAL Y PROTEÍNAS AMNIÓTICAS

Observando los resultados obtenidos, y tras el análisis estadístico a que han sido sometidos, podemos destacar varios aspectos de interés:

1. La edad gestacional del feto es explicada por los distintos datos de las proteínas amnióticas, en el sentido de confirmar la hipótesis de trabajo en lo referente a la eliminación o presencia de microproteínas en el L.A.. En este orden de cosas es de destacar que, tanto la concentración como el cociente B_2M/Cr , son los que más se correlacionan; por su puesto, negativamente, con la edad gestacional, como expresión cronológica de la maduración renal fetal. Lo cual es coincidente con otros autores^{166, 171, 224}.

La otra microproteína estudiada, la A_1M y sus parámetros de concentración si bien se correlacionan menos que la B_2M , también presentan una correlación negativa con la maduración renal fetal. En parte coincidente con BURGHARD¹⁶⁶.

2. Las otras proteínas de mayor tamaño, tales como la AFP, la Alb. y Ig.G, tienen una correlación con la edad gestacional de una forma significativa para los sistemas biológicos libres. Esta correlación, obviamente, es negativa; o sea, a medida que aumenta la edad gestacional, disminuye la concentración y los parámetros, cocientes y porcentajes de cada una de las mencionadas «mesoproteínas y macroproteínas»; por su puesto sin alcanzar el alto coeficiente de correlación que presenta la edad gestacional con la B_2M .
3. Referente, específicamente, a los cocientes amnióticos: B_2M/Cr y A_1M/Cr , son expresión de la eliminación renal, corregidas por la Creatinina amniótica como «marcador glomerular» y de la cuantía de concentración del L.A., o sea, una forma indirecta de volumen amniótico. Es de destacar que estos parámetros de eliminación con valor «semicuantitativo» se correlacionan al igual que las concentraciones de dichas "microproteínas" con la edad gestacional, como indicador objetivo de maduración renal fetal. Dicha correlación insistimos es negativa.
4. Los cocientes amnióticos de la AFP/Cr ; $Alb./B_2M$; Tf/B_2M ; Tf/A_1M ; $Ig.G/Cr$; A_2M/A_1M y A_2M/B_2M , presentan una correlación bastante interesante,

con la edad gestacional, pero son de carácter positivas unas, y negativas otras. Así el cociente A_2M/A_1M y el A_2M/B_2M son parámetros, que se correlacionan, positivamente, con la maduración renal fetal, pero sin olvidar que, tanto las concentraciones como los cocientes de la A_1M y la B_2M , aisladamente, tienen una clara correlación negativa con la edad gestacional, como hemos enunciado más arriba, de acuerdo con el análisis de los datos obtenidos.

5. La A_2M se mantiene constante a lo largo del desarrollo fetal; hallazgo que, en parte, confirma la hipótesis de trabajo referente a dicha "macroproteína", en la que decíamos que: dado su gran peso molecular, las membranas glomerulares fetales serían semi-impermeables a tal molécula. No obstante, en lo que se refiere al específico cociente A_2M/A_1M se hace más grande, puesto que la A_1M se hace más pequeña, a medida que progresa el desarrollo fetal, objetivado por la edad gestacional; ocurriendo algo similar con el cociente A_2M/B_2M .
6. Observando detenidamente los datos obtenidos y el análisis estadístico de los porcentajes de las distintas proteínas amnióticas, debemos remarcar que sólo tienen un carácter significativo los referentes a la A_1M y la B_2M y que, naturalmente, presentan un coeficiente de correlación negativo, concluyendo con la siguiente afirmación: la contribución de ambas «microproteínas» al total de proteínas amnióticas, disminuye, a medida que la edad gestacional progresa.
7. Se puede afirmar, observando las distintas variables, que las mayores correlaciones que presentan las proteínas amnióticas son referentes a sus concentraciones o cifras «absolutas», y que, tanto los porcentajes como los cocientes amnióticos de las distintas proteínas, confirman los resultados enunciados para las concentraciones. Si bien son cifras «relativas», en lo concerniente a los «cocientes amnióticos», en función de la Creatinina, se está aportando una valoración «semicuantitativa», lo más factible, obviamente, al sistema biológico que estudiamos. No olvidemos que estamos trabajando sobre L.A. humano, y por tanto una valoración «cuantitativa-absoluta» de la cuantía de cada proteína, en función del volumen exacto de fluido, es imposible con el material que investigamos. En el caso de la investigación experimental con animales podría obviarse este pequeño error de cuantificación, si bien nunca tendría una extrapolación a la práctica diaria, salvo que un método indirecto nos pudiera ofrecer un volumen de L.A. con más exactitud; pero, mientras no exista esta posibilidad, el manejo de los «cocientes amnióticos», equivalentes a los cocientes de excreción urinaria, sancionados por el uso diario en la clínica nefrológica humana, son útiles para esta investigación.

5.2. VALORACIÓN Y LIMITACIÓN DE LA RELACIÓN ENTRE DIÁMETRO BIPARIETAL Y PROTEÍNAS AMNIÓTICAS

Observamos las correlaciones de las diferentes proteínas amnióticas, en relación al dato objetivo ecográfico de la medición del diámetro biparietal, y las cantidades absolutas muestran unas significativas correlaciones, tanto de la B₂M como de la AFP, que presentan con dicho parámetro unas correlaciones negativas. Nos estamos refiriendo, concretamente, a las concentraciones de las mencionadas proteínas y su relación con el DBP. La concentración de la Creatinina amniótica, si bien no llega a dar una correlación significativa, muestra una discreta correlación en el sentido positivo, lo que quiere decir que a mayor DBP mayor Creatinina Amniótica.

Los cocientes de eliminación proteica, que muestran una relación significativa, son la B₂M/Cr. y AFP/Cr., presentando unos coeficientes negativos; lo cual indica que este objetivo y valioso parámetro de maduración renal, es igualmente su comportamiento que el de la «edad gestacional al hacer la amniocentesis», aportando un dato importante que consolida y confirma nuestra hipótesis de trabajo, que hemos mencionado reiteradamente y que es preciso sin embargo volver a subrayar: «la reabsorción tubular de microproteínas en el riñón fetal aumenta con la maduración del feto, sea expresada en términos cronológicos de edad gestacional o en DBP-ecográfico.

5.3. COMENTARIOS SOBRE LA RELACIÓN COCIENTE L/E Y PROTEÍNAS AMNIÓTICAS

Es un hallazgo interesante el tipo de relación que presenta el parámetro cociente L/E, como indicador de la maduración pulmonar del feto, en el sentido que vamos a comentar: «la Creatinina amniótica expresada en mg/l, es un indicador de la maduración glomerular del riñón fetal, y observamos que este parámetro está estrechamente relacionado con el cociente L/E, presentando un coeficiente de correlación positivo».

A medida que aumenta el cociente L/E se eleva la concentración de la Cr-amniótica. Es curioso que, por el contrario, este parámetro de maduración pulmonar no se relaciona de forma significativa con los «indicadores de maduración tubular» del riñón fetal, o sea, la B₂M y la A₁M. Y es interesante destacar cómo algunos cocientes amnióticos proteicos,

que lleven en su denominador a la Creatinina, o sea, estén relacionados con la función glomerular, tienen algún indicio de significación, con lo que se apuntala el carácter significativo de la Creatinina, como variable que se correlaciona con el cociente L/E.

5.4. SIGNIFICADO Y LIMITACIÓN DE LA RELACIÓN: PESO NATAL Y PROTEÍNAS AMNIÓTICAS

El peso al nacer no es coincidente cronológicamente con el L.A., objeto del estudio; esto es una evidencia. Sin embargo, el intervalo entre «prenacimiento» (fecha de la amniocentesis) y la fecha del nacimiento, presentan una maduración muy similar en todos los casos de nuestro estudio. Queremos significar con ello que, el error implícito en la relación entre las distintas proteínas amnióticas de nuestro estudio y el parámetro prenatal, es prácticamente despreciable y así podemos comentar y destacar que, en las cifras «absolutas» o concentraciones proteicas, se observan significaciones en la B₂M, Alb, y proteínas totales. Las mencionadas correlaciones son de tipo negativas, con lo que el peso natal hallado es mayor, mientras menores son las concentraciones de las proteínas mencionadas.

El mencionado parámetro peso natal presenta, en lo concerniente a los cocientes: B₂M/Cr, Alb./B₂M y Tf./B₂M, un carácter significativo, y, una vez más, destacamos cómo la presencia de la B₂M imprime un carácter correlativo negativo a otro parámetro más de maduración fetal, en este caso al peso natal.

No tienen ningún carácter significativo los porcentajes de las distintas proteínas y su relación en el peso natal, aunque sin alcanzar un nivel significativo si está muy próximo al porcentaje de B₂M, con lo que se refuerza, aún más, la hipótesis de trabajo, que, junto a otros autores, confirmamos en nuestro estudio^{166, 171, 172, 173}.

5.5. VALORACION Y COMENTARIOS DE LA RELACION APGAR Y PROTEINAS AMNIOTICAS

Aunque no es parámetro de maduración fetal, el Apgar es un indicador de bienestar fetal global al nacer, y dada su importancia en la vitalidad del feto recogimos este dato y lo correlacionamos con las distintas proteínas amnióticas, con el ánimo de predecir, de alguna forma, con que grado de bienestar podría nacer un feto, en función de los parámetros proteicos citados. En los resultados obtenidos destacamos la correlación, sobre todo

del APGAR-5 min., y las concentraciones de la B₂M, A₁H, alb. y Proteínas Totales, presentando todas ellas una correlación negativa.

La existencia de una correlación negativa del APGAR con la microproteína A₁M tiene para nosotros un especial interés, ya que, aparte de suministrar una predicción del bienestar fetal del feto, presenta un carácter inédito, puesto que no hemos encontrado en la literatura consultada ningún trabajo que aporte algo al respecto. Referente a la B₂M tampoco hemos encontrado estudios al respecto; pero sí son numerosos los trabajos^{166, 171, 172, 173, 191}, que la correlacionan con algún dato de maduración renal: casi siempre con la edad gestacional por la FUR. Nuestras aportaciones, tras los análisis de los resultados, son más amplias, dado que, las correlaciones establecidas de forma significativa con la maduración fetal, no se circunscriben a la «edad gestacional de la amniocentesis», sino a otros parámetros objetivos, mediante la medición ecográfica del DBP del feto, la maduración pulmonar por el cociente L/E la Citología del L.A., etc.

5.6. ANALISIS Y VALORACION DE LAS INTERRELACIONES DE LOS PARAMETROS DE MADURACION FETAL «ENTRE SI» Y DE LAS PROTEINAS AMNIOTICAS «ENTRE SI»

Es preciso señalar que, dentro de los posibles errores que pueda tener la fecha de la última regla, como punto de referencia para la edad gestacional de la amniocentesis, se soslayó esta posible falacia relacionándola con todos los parámetros de madurez fetal que se usan en la práctica diaria. Del análisis estadístico de las mencionadas correlaciones se concluye que: la «edad gestacional en el momento de la amniocentesis» guarda una correlación con todos los demás parámetros.

1. Las relaciones que muestran los distintos parámetros de madurez fetal «entre sí», fueron también objeto de análisis estadísticos, con el objetivo de determinar el origen de las correlaciones existente entre los mencionados parámetros y las distintas proteínas amnióticas estudiadas. Incluso algunas variables también se han incluido en las interrelaciones mencionadas, a pesar de no ser dados propiamente dichos de madurez fetal, como la Osmolalidad, el Ph amniótico etc. En este orden de cosas, es preciso destacar como el DBP presenta correlaciones significativas positivas con dos parámetros de gran interés

clínico, como son el Peso natal y la Edad al nacer, lo cual es evidente y conocido en la práctica obstétrica.

2. Dentro de las relaciones de las proteínas «entre sí», evaluadas en términos de concentración, se aprecia, en el análisis de los resultados, la ligazón entre las «dos microproteínas» estudiadas; evidenciando con esta correlación el paralelismo y similitud del comportamiento de ambas como parámetro de maduración renal tubular, en el sentido de disminuir su presencia en el L.A., al progresar la edad gestacional, o el aumento de madurez fetal evaluada por otros parámetros citados: DBP, Citología, etc.

La Osmolalidad amniótica, como variable acompañante, solo muestra una correlación significativa positiva con el Delta 450. El Peso natal se correlaciona positivamente, con la Edad al nacer y con el APGAR. Destacaremos que el Ph amniótico es una variable que no tiene correlación alguna con ningún parámetro estudiado.

5.7. COMENTARIOS A CERCA DE LAS PROTEINAS AMNIOTICAS Y SU RELACION CON PATOLOGIA FETO-MATERNA

Referente a los casos patológicos es importante señalar que, si bien no hay una correlación significativa de la patología fetal o materna con las variables de las distintas proteínas amnióticas, es de gran interés la constatación de la significación que presenta el «cociente amniótico A₁/Cr», objetivándose la tendencia a ser mayor dicho cociente en los casos patológicos. Hay significación a nivel de indicios, también, en los cocientes: PT/Cr.; A₂M/A₁M; A₂M/B₂M; A₂M/Cr; IgG/Tf.; IgG/Cr Y Tf/Cr. Estas significaciones mencionadas son todas en el mismo sentido, o sea, valores más altos presenta los cocientes mencionados en los individuos patológicos, en relación a cocientes más bajos en los casos sin patología feto-materna.

Observando los resultados obtenidos, es digno de destacar el hecho de la presencia de concentraciones más altas en los individuos patológicos en cuanto a la Transferrina, Alfa-2-macroglobulina y Alfa-feto-proteína. Como observamos, las significaciones en casos patológicos coinciden, en buena parte, con los casos sin patología; en el estudio multivariante se suprime, a veces, el efecto de esa variable y así asegurar que la relación encontrada entre proteínas y los parámetros de madurez fetal no sea un efecto falaz de la patología del feto.

5.8. COMENTARIOS SOBRE EL ESTUDIO DE «REGRESION MULTIPLE» DE CADA PARAMETRO NO-PROTEICO DE MADURACION FETAL EN RELACION CON LAS PROTEINAS AMNIOTICAS

Analizando los resultados estadísticos de la aplicación del «estudio de regresión múltiple», de cada uno de los parámetros de madurez fetal en relación a las proteínas amnióticas, es preciso mencionar algunos hechos relevantes.

1. La edad gestacional queda determinada de forma más clara por la variable B_2M ; y en segundo lugar, la concentración AFP, explica, de forma significativa, dicho parámetro, otras variables que también presenta un factor determinante en la edad gestacional son: la AFP/A_1M ; % Alb. y el Cociente Tf/Cr .
2. Por su interés práctico y objetivo es conveniente enunciar los resultados de la regresión múltiples para DBP y, es preciso destacar, que, la edad gestacional suprimida en el estudio, deja lugar a la variable AFP para explicar el Diámetro Biparietal en un porcentaje del 10,3% de variabilidad del DBP; así mismo el cociente Tf/B_2M también aporta un porcentaje, aunque escaso, en la explicación del DBP.
3. El Peso Natal queda determinado en un porcentaje de variabilidad importante por la B_2M . Para completar el análisis, y soslayar el posible error del intervalo entre fecha de amniocentesis y fecha de nacimiento, se sometió a estudio estadístico y, como es lógico, este hecho explica diferencias existentes entre los pesos distintos al nacimiento. Solo la B_2M es la que explica de forma determinante y clara el peso al nacimiento y las demás variables se anulan al introducir el intervalo de tiempo entre amniocentesis y nacimiento.

— A modo de resumen podemos hacer el siguiente comentario: el parámetro de «madurez fetal», que mejor es explicado por las distintas «proteínas amnióticas», es la edad gestacional. Las razones que aducimos son, por una parte la simultaneidad en el tiempo de la amniocentesis y la edad gestacional, y por otra, porque los otros parámetros de madurez fetal, lo que procuran, en definitiva, es referirse a la edad gestacional del feto, que, aunque presenta cierto carácter subjetivo en términos globales, es un dato fácilmente determinado por la madre. Los otros parámetros de madurez fetal: DBP, Citología etc, son mucho peor determinados por las Proteínas Amnióticas, y, como decíamos en el análisis de los resultados, solo explican no más del 25% de variabilidad, posiblemente esto ocurre porque no presentan las condiciones o razones anteriormente aducidas.

5.9. COMENTARIOS ACERCA DE COCIENTES PROTEICOS AMNIOTICOS, COMO INDICADORES DE «SELECTIVIDAD PROTEICA RENAL»

Siguiendo la línea de este trabajo, aunque realizado en el neonato en las 24-48 h. de vida extrauterina, nosotros estudiamos¹⁶⁷, la «selectividad de las proteínas urinarias», como un indicador de la maduración fetal. En aquel trabajo conseguimos encontrar una cierta relación entre la «selectividad de la proteinuria» y «la maduración fetal», expresada en edad gestacional al nacer y el peso natal. Para lo cual, utilizamos el «índice de CAMERON»²²⁷, consistente en el aclaramiento de una proteína de peso molecular elevado (Ig. G) y dividido por el aclaramiento de otra proteína de peso molecular próximo a la Albúmina (Transferrina). En aquel entonces en la literatura no encontrábamos ninguna referencia a este concepto de «selectividad» o indicador de permeabilidad glomerular, y, al final del trabajo, dejábamos planteada la hipótesis de la posibilidad de que aquella correlación podría existir, de igual forma con el «cociente de las concentraciones urinarias» o «amnióticas», en el caso del feto no nacido, enfocadas bajo la misma óptica de relacionar, en un cociente una proteína de tamaño elevado con otra de menor tamaño, y que, por motivos evidentes, sería mucho más factible de aplicar a la práctica diaria, si fuera preciso.

Siguiendo esta línea de pensamiento aquellos cocientes los buscamos en el trabajo presente, extrapolados a la orina del feto, o sea, al L.A., como fluido en el que el mayor componente es la orina fetal. Y como relatamos en el capítulo de Resultados, curiosamente, la correlación era significativa para Delta-450 al relacionarlo con el cociente IgG/Tf (equivalente de índice de CAMERON), así como para el AFGAR y el cociente A₂M (Macroproteína) / Alb (Mesoproteína), equivalente, igualmente, a un índice de selectividad proteica, pero no hemos encontrado una correlación clara y significativa entre estos cocientes proteicos y la edad gestacional.

6. Conclusiones

Después de una valoración minuciosa de los resultados obtenidos, podemos extraer las siguientes conclusiones:

1. La concentración amniótica de Beta-2-microglobulina es el parámetro que mejor se correlaciona con la edad gestacional, como dato básico de maduración fetal.
2. La otra microproteína estudiada Alfa-1-microglobulina también presenta una correlación aceptable con la edad gestacional del feto. Ambas correlaciones son de sentido negativo: aumentan cuando disminuye la edad gestacional y viceversa.
3. Los cocientes B_2M/Cr y A_1M/Cr , expresión semicuantitativa de eliminación de microproteínas amnióticas, se correlacionan de la misma forma que sus concentraciones amnióticas respectivas.
4. Las «mesoproteínas» estudiadas (Alb, Tf, AFP) presentan una correlación negativa con la edad gestacional, similar en su naturaleza a las «microproteínas», pero con una intensidad mucho menor. Esa correlación lo es tanto en sus concentraciones como cocientes y porcentajes proteicos.
5. Los cocientes de "mesoproteínas" / creatinina, así como los cocientes entre estas y las otras proteínas presentan una correlación negativa interesante; así destacamos, por su buena relación con la edad gestacional, la AFP/Cr ; Alb/B_2M ; Tf/B_2M ; Tf/A_1M .
6. La Alfa-2-macroglobulina, como representativa de las "macroproteínas" amnióticas mantiene una concentración muy similar en todas las edades gestacionales, evidenciando una «semi-impermeabilidad» de las membranas biológicas fetales a dicha "macroproteína"; pero añadiendo la interesante conclusión: los cocientes A_2M/A_1M y A_2M/B_2M se eleva con la maduración fetal, ya que la presencia menor de "microproteínas", al aumentar la edad gestacional, baja el mencionado cociente, puesto que los A_2M mantiene la concentración relativamente constante a lo largo del desarrollo fetal.
7. Con relación al diámetro biparietal fetal, que es un dato importante y habitual de maduración fetal, podemos concluir:

La concentración de B₂M y AFP, así como los cocientes B₂M/Cr y AFP/Cr, presentan una excelente correlación negativa con el mencionado parámetro no proteico de maduración fetal. En lo que respecta a B₂M, prototipo de microglobulina, se observa que la reabsorción tubular B₂M en el riñón fetal aumenta con la maduración del feto, y ésta objetivada como edad gestacional cronológica o como deducible del DBP.

8. El clásico parámetro de maduración pulmonar, o sea, el cociente L/E presenta una buena correlación positiva con la Creatinina amniótica, evidenciando que la maduración pulmonar va paralela a la maduración glomerular renal, pero no se relaciona de forma significativa con los indicadores de maduración tubular, o sea, B₂M y A₁M.
9. El peso natal está estrechamente relacionado con el coeficiente de correlación negativo con las concentraciones amnióticas de la B₂M y Alb y PT. En lo concerniente a los cocientes se evidencia una buena correlación negativa en los siguientes: B₂M/Cr; Alb/B₂M y Tf/B₂M.
10. El APGAR-5-min., se correlaciona negativamente con las concentraciones de B₂M, A₁M, Alb y P.T. Es destacable la correlación con A₁M, dado que es una microproteína que puede predecir el bienestar fetal.
11. El cociente A₁M/Cr se eleva cuando existe patología feto-materna, evidenciando la alteración tubular fetal secundaria a cualquier patología que interfiera el desarrollo del mismo.
12. A modo de conclusión-resumen podemos enunciar: «el parámetro de madurez fetal que mejor es explicado por las distintas proteínas amnióticas, tanto en sus concentraciones, cocientes y porcentajes, es la edad gestacional»; asimismo la edad gestacional se correlaciona negativamente con la concentración de microproteínas amnióticas (A₁ y B₂M) y sus cocientes de eliminación (A₁M/Cr y B₂M/Cr) como indicadores de maduración tubular renal del feto.

7. Bibliografía

1. PLENTL A. A. The dynamics of amniotic fluid. *Ann N.Y. Acad. Sci* 1959; 75: 746-751.
2. PLENTL A. A., GRAY, M. J. Hydrodynamic model of 3-compartment catenary system with exchanging end compartment. *Proc. Soc. Exp. Biol* 1954; 87: 595-661
3. HUTCHINSON DL., GRAYN M., PLENTL A. A., ALVAREZ H., CALDEYRO-BARCIDA R., KAPLAN B., And LIND J. The roles of the fetus in the water exchange of the amniotic fluid of normal and hydramniotic patients. *J clin Invest* 1959; 38: 971-976.
4. ABAD L., Origen y circulación del líquido amniótico. En: BONILLA-MUSOLES F., TORRES J.V. *Líquido amniótico*. 1ª Ed. Barcelona: Editorial Científico-Médica, 1975: 1-34.
5. CEHZ R.A., SMITH F.G., HUTCHINSON D.L., Renal function in the intruterine primate fetus. *Amer J. Obstet Gynec* 1964; 90: 128-133..
6. LIND T., WENDALL A., and HYTTENFE: The role of the fetus in the formation of amniotic fluid. *J. Obstet Gynecol Br Commonw* 1972, 79: 289-298.
7. LIND T and HYTTENFE. Relation of amniotic fluid volume to fetal Weight in the first half of pregnancy. *Lancet* 1970; 1: 1447-1459.
8. LINDT, BILLEWICZ W.A. and CHEYNE G.A. Composition of amniotic fluid and maternal blood through pregnancy. *J. Obstet Gynecol Br Commonw* 1971; 78: 505-509.
9. LIND T., PARWIN F.M., CHEYNE G.A. Biochemical and cytological changes in Liquor amnii with advancing gestation. *J. Obstet Gynecol Br Commonw* 1969; 76: 673-679.
10. CAMPBELL S., WLADIMIROFE J.W., DEWHURST C.J. The antenatal measurement of fetal urine production. *J. Obstet Gynecol Br Commonw* 1973; 80: 680-685.
11. PRITCHARD J.A. Fetal swallowing and amniotic fluid volume. *Obstet Gynecol (N.Y.)* 1966; 28: 606-611.
12. PRITCHARD J.A. Deglutition by normal and anencephalic fetuses. *Obstet Gynecol (N.Y.)* 1965; 25: 289-294.

13. HARRISON R.G., MALPAS P. The volume of human amniotic fluid. *J. Obstet Gynecol jBrit Emp* 1953; 60: 632-637.
14. PARMELEY T.H., SEEDS A.E. Fetal Swin permeability to isotopic water in early pregnancy. *Amer J. Obstet Gynecol* 1970; 108: 128-132.
15. VOSBURGH G.L., FLEXNER L.B., COWIEDB., HELLMAN L.M., PROC-TORNK., WILDE W.S. The rate of renewal in woman of the water and Sodium of the amniotic fluid as determined by tracer techniques. *Amer and obstet Gynecol* 1984; 56: 1156-1161.
16. BARTON T.C., BAKER C. Permeability of human amnion and chorion membrane. *Amer and Obstet Gynecol* 1967; 98: 563-568.
17. HUTER J., DREHER E., MULLER V. Chorio amniotal transfer zwischen grávida und fetus. *Geburth V. Frauenheilk* 1970; 32: 169-175.
18. MELLOR D.J., COCKBURN F., LEES M.N., BLAGDEN A. Distribution of ions and electrical potential differences between mother and fetus in the human at term and *Obstet Gynecol Br Commonw* 1969; 76: 993-998.
19. SEEDS A.E. Water metabolism of the fetus. *Amer and obstet Gynecol* 1965; 92: 727-732.
20. SEEDS A.E. Water transfer across the human amniotic in response to osmotic gradients. *Amer and Obstet Gynecol* 1967; 98: 568-574.
21. AGUERO O., ZIGHELBOIM I. Creatinina en el líquido amniótico and adu-rez fetal. *Rev de Obstet and inecol de Venezuela*, 1971; 31: 69-74.
22. AGUERO O., M ZIGHELBOIM I. Photography and molegraphy. *Surg Gynecol Obstet* 1970; 130: 649-654.
23. BIGS J.S., DUNCAN R.D. Production rate and Sources of amniotic fluid at term and *Obstet Gynecol Br Commw*. 1970; 77: 326-331.
24. BROLWN A.K. Constituents of amniotic fluid. In ADAMSONS K: *Diagnosis and treatment of fetal disorders*. S. Verlag. N. York, 1968: 121-128.

25. PAUL W.N., ENNST., REYNOLDS S.R.M., CHINARD F.P. Sites of water exchanges between the maternal system and the amniotic fluid of rabbits J. Clin Invest 1955; 35: 634-639.
26. INCHS F. Volume of amniotic fluid at various stages of pregnancy. Clin Obstet Gynecol 1966; 9: 449-453.
27. PLENTL A.A. Formación y circulación del líquido amniótico. Clin Obstet Gynecol 1966; Junio: 427-433.
28. SEEDS A.E. Líquido amniótico y metabolismo hídrico. En BARNES A. Desarrollo Intrauterino. Barcelona. Ed. Salvat, 1970: 147-153.
29. ANDREWS B.F. Amniotic fluid Studies to determine maturity. Pediat Clin N. Amer 1970; 17: 49-54.
30. MOYA F., APGAR V., STANLEY J.L., BERRIEN C. Hydramnios and congenital anomalies. Study of Series of Seventy four patients. JAMA 1960; 173: 1552-1558.
31. OSTERGARD D.R. The physiology and clinical importance of amniotic fluid. A review. Obstet Gynecol 1970; 25: 297-301.
32. COX W., CHALMERS T.A. The transfer of Sodium to the amniotic fluid in normal and abnormal cases determined by Na²⁴ tracer methods J Obstet Gynecol Br commonw 1953; 60: 222-227.
33. HUTCHINSON D.L., HUNTER C.B., MESLEN E.D., PLENTL A.A. Exchange of water and electrolytes in the mechanism of amniotic fluid formation and the relationship to hydramnios. Surg Gynecol Obstet 1955; 100: 391-398.
34. THOMPSON W., LAPPIN T.R., ELDER G.E. Liquor volume by direct spectrophotometric determination of inositol P.A.H. J. Obstet Gynecol Br Commonw. 1971; 78: 341-350.
35. GILLIBRAND D.N. Changes in amniotic fluid volume with advancing pregnancy and Obstet Gynecol Br Commonw 1969; 76: 527-533.
36. CHARLES D., JACOBY M.E., BURGESS F. Amniotic fluid volume in the second half of pregnancy. Amer J. Obstet Gynecol 1965; 93: 1042-1049.

37. ELLIOT P.M., IMMAN W.H.W. Volume of liquor amnii in normal and abnormal pregnancy. *Lancet* 1961; 2: 835-841.
38. WAGNER G., FUCHS F. The volume of amniotic fluid in the first alt og human pregnancy *J. Obstet Gynecol Br Commonw* 1963; 69: 131-138.
39. GLAUSER FE. Multidisciplinary aproach to meningoceles. *N. Y. Stat and of Medic.* 1970; 70: 2986-2992.
40. SHULMANN K., AMES M.D. Intensive treatment of fitty children born with myelomenigocele. *N.Y. State J. Of Mecidine.* 1968; 68: 2658-2663.
41. GADDE R.L. The volume of liquor amnii in normal and abnormal pregnancies *J Obstet Gynecol Br Commonw* 1966; 73: 11.
42. UYENO D. The phisical properties and chemical composition of human amniotic fluid. *J iol Chem* 1919; 37: 77-84.
43. ABRAMOVICH D.R. Fetal factors influencing the volume and composition of liquor amnii *J Obstet Gynecol Br Commonw* 1970; 77: 865-871.
44. BATAGLIAF., PRYSTOWSKY H., SMISSON C., HELLEGERS A., BRUNS P. On the changes in total osmotic presure and Sodium and potasium concentrations of amniotic fluid during the course of human gestation. *Surg Gíneec. Obstet* 1959; 109: 509-514.
45. BONSNES R.W. Composition del Líquido amniótico. *Clin Obstet Ginec* 1966; 1 (junio): 440-446
46. CAN? ARROW A., STRUCKERT H., DAVIS R.C. The chemical composition of amniotic fluid. *Surg Gynecol obstet* 1933; 57: 63-69.
47. DELECOUR M., MOUNIER J.C., CODACCIONI X. Conocimientos actuales sobre fisiología y bioquímica del líquido amniótico. *Sinop Obst. GINE* 1970; 36: 420-426.
48. MATTISON D.R. Amniotic fluid Osmolality. *Obstet Gyneec* 1970; 36: 420-426.
49. NUSBAUM N.S., ZETTNER A. The content of calcium, magnesium, copper, iron, sodium and potasium in amniotic fluid fron eleven to nineteen weeks gestation. *Amer J Obstet Gynecol* 1973; 115: 219-224.

50. ENHORGNING G. The surface tension of amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol.* 1964; 88: 519-524.
51. MAKEPEASE A.W., FREEMONT-SMITH F., DAILEY M.E., CARROLL M.P. Nature of amniotic fluid. A comparative Study of human amniotic fluid and maternal serum. *Surg Gynec Obstet* 1931; 53: 635-639.
52. MARSH R.H., WING J.E., BECKER R.F. Volume and viscosity of amniotic fluid in rat and guinea Pig fetuses near term. *Ame J Obstet Gynecol* 1963; 85: 484-489.
53. MOSS A., RETTORI O. Studies of gas tensions. P.H. and viscosity in amniotic fluid of Sheep. *Am J Obstet Gynecol* 1966; 95: 270-276.
54. RYAN G.T., IVY R., PEARSON J.W. Fetal bleeding as a major hazard of amniocentesis *Obstet Gynec* 1972; 40: 702-708.
55. WIDDOWSON E.M., McCANCE R.A., HARRISON G.E., SUTTON A. Metabolism of calcium stronium, and other minerals in the perinatal period. *Lancet* 1962; 2: 373-378.
56. ARONSION G., BERTOLIZIO G., FRANGIPIANI G.C. Studio dell' equilibrio ácido-base del líquido amniótico in corso di gravidanze normali e patologiche. *Ann Obstet Ginec.* 1965, 87: 924-929.
57. BERTLIZIO G., AROSIO G., FRANGIPIANI G.C., D'AQUINO P. Studio della PO₂ e dell'equilibrio ácido-básico nel líquido amniotico durante iperossigenazione materna. *Ann Obstet Ginec.* 1966; 88: 302-309.
58. CASSADY G., BARNETT R. Acid-base and gas tension studies of the amniotic fluid in human gestation. *Biol Neonat* 1969; 14: 251-258.
59. HAWORTH S.G., MILIC A.B., ADAMSONS K. Indices bioquímicos del estado fetal. *Clin. Obst. Ginec* 1968: XII: 1182-1189.
60. ROTH G., SJOSTEDT S., CALIGARA F. Acid-base balance of the amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1961; 81: 4-9.
61. VOTTA T.A. Vitalidad fetal y estudio del líquido amniótico. En VOTTA R.A.: *Líquido Amniótico.* Buenos Aires. Ed. Medica-Panamericana. 1975: 88-105.

62. CORSON S., BOLOGNESE R.S. Amniotic fluid pH. as an indicator of fetal asphyxia. *Obstet Gynec* 1968; 31: 397-402.
63. SYMONDS E.M., WILLIAMS S.S., CELLIER K.M. Maternal and fetal influences on the acid-base of human amniotic fluid. *Obstet Gynecol* 1971; 37: 742-749.
64. COCKBURN F., GILES M., ROBINS S.P., FORFARIO. Freed aminoacid composition of human amniotic fluid at term y *Obstet Gynecol Br Commonw* 1973; 80: 10-14.
65. KEER G.R., KENNAN A.L. The freed aminoacids of amniotic fluid dering pregnancy of the rhesus monkey. *Am J Obstet Gynecol* 1969; 110: 363-369.
66. REID D.W.J., CAMPBELL D.J., YAKY., MYSHYN L.Y. Chantitative aminoacids in amniotic fluid and maternal plasma in early and late pregnancy. *Am J bstet Gynecol* 1971; 11: 251-256.
67. PARLEY T.H., MILIER E. Fetal maturaty and amniotic fluid analysis. *Am J Obstet Gynecol* 1969; 105: 354-361.
68. SHAH S.E., ALDERMAN M., QUEENAN J.T., BRASEL J.A., WINICK M. Mondialyzable peptide-bond hidroxyproline in human amniotic fluid. An indicator of fetal growth. *Am J Obstet Gynecol* 1972; 114: 250-257.
69. BENENCIA H. Bioquímica del Líquido Amniótico. *Rev Arg Ginec Obstet* 1970; 1: 97-102.
70. SINHAR., CARLTON M. Volume and composition of amniotic fluid in early pregnancy *J Obstet Ginecol Br Commonw* 1970; 77: 211-217.
71. LINDT. The biochemistry of amniotic fluid. In FAIRWATHER D.V.I., EX-KEST K. A.B.: *Amniotic fluid*. Amsterdam: Exc Médica Found, 1973: 60-66.
72. CASTIÑEIRA M.R. Bioquímica del Líquido Amniótico. *Rev Arg Perin Puer* 1972; 1: 104-109.
73. GIRAUD J.R. Etude Chémique et cytologique du liquide amniotique. *Gin et Obst* 1970; 69: 495-502.

74. HAMILTON L.A., SZYJEWSKAI P.F., PATEL M.K. Combined Sonographic and biochemical estimation of fetal maturity in high-nise pregnancy. *Obstget Gyneec* 1973; 41: 837.
75. PITKIN R.M., ZWIREK S.J. Amniotic fluid Creatinne. *Am J Obstet Gynecol* 1967; 98: 1135-1139.
76. WHITTE C.H., DOOREMBOS D., BRADBURY J. Role of chemical and citologic analysis of amniotic fluid in determination of fetal maturity. *Am J Obstet Gynecol* 1969; 104: 664-673.
77. ENG-SOON-THEOH., LAU Y.K., AMBROSE A., RATNAM S.S. Amniotic fluid creatine, uric acid, and urea as indices of gestational age. *Acta Obstet Gyneec Scand* 1973; 52: 323-329.
78. BONILLA MUSOLES F., TORRES J.V. Creatinina en Líquido Amniótico. Barcelona: Ed Científico-Medica, 1975: 103-108.
79. DORAN T.A., BIERRE S., PORTER C.J. Creatinine, uric acid and electrolytes in amniotic fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1970; 106: 325-330.
80. DROEGEMMVELLER W., JACKSON C., MAKOWISDI E.L. BATTAGLIA F.C. Amniotic fluid elamination as an aid in the assessment of gestational age. *Am and Obstet Gynecol* 1969; 104: 424-430.
81. DUMONT M, NELKEN S., PAGE Y., LANSAC J. Relation entre le taux de creatinine du liquide amniotique et le poids foetal. *Bull Fed Gyn et Obstet* 1971; 23: 182-190.
82. ENLADER D. Amniotic fluid indicators of fetal maturity. *Obstet Gynecol* 1972; 40: 605-609.
83. VOTTA Aplicaciones clínicas del estudio de la creatinina del Líquido amniótico. En: VOTTARA: Líquido Amniótico. Buenos Aires: Ed Médica-Panamericana, 1975: 59-77.
84. MANDELBAUM B., EVANS T.N. Life in the amniotic fluid. *Am and Obstet Gynecol* 1972; 114: 809-815.

85. ROOPNARINESING S. Amniotic fluid creatine in normal and abnormal pregnancies and *Obstet Gynecol Br Commonw.* 1970; 77: 785-790.
86. WYATT H., HALBERT D.R., CREANSHAW C. Estimation of fetal maturity by cytologia examination and Creatinine determination of amniotic fluid. *Obstet Gynec* 1969; 34: 772-780.
87. BEGNEAUD W.P., HAWES T.P., MICKAL A., SAMUELS M. Amniotic fluid creatine for prediction of fetal maturity. *Obstet Gynecol* 1969; 34: 7-13.
88. SANGUINETTI C.M., ROSS N., ARCHINAUT G. Significado de la relación entre Creatinina en sangre materna y Líquido amniótico en relación con la patología materno-fetal. XIII Congreso Argentino de Obstetricia y Ginecología. Córdoba, Argentina 1970: 793-803.
89. FORT A.T. Prenatal intrusion into amnion, (A review of the diagnostic therapeutic and research results). *Am and Obstet Gynecol* 1971; 110: 432-439.
90. NAKAMURA J., ROUX J.F. Determination of amniotic fluid phospholipids for the diagnosis of fetal maturation. *Am and obstet Gynecol* 1974; 119: 104-109.
91. QUEENAN J.T., THOMPSON W., WHITFIL-ELD C.R., SHAH S.I. Amniotic fluid volumes in normal pregnancies. *Am and Obstet Gynecol* 1972; 114: 34-40.
92. TROCHOTH, COLL A.R. OSINDRE A., BALDI E.M. AHNAD F., JAMARDO., N. Significado de la concentración amniótica de creatinina en el embarazo normal y patológico. *Obst Gynec Lat amer* 1972; 30: 425-431.
93. BIEZENSKI J.J. Amniotic fluid phospholipids in early gestation. *Obstet Gynec* 1973; 41: 825-832.
94. GLUCK L., KULOVICH M. Symposium of respiratory disorders in the newborn. Fetal lung development, current concepts. *Pediat clin N. Amer* 1973; 20: 367-373.
95. KOTAS R.V. The estimation of perinatal pulmonary maturity; a commentary and *Ped* 1972; 81: 378-384.
96. ATTALB., GILLONT J.Y., ZURLINDEN B., HENRY E., COLETTE C., La chromatographie des phospholipides du liquide amniotique. Indice de maturité pulmonaire foetale and *Gyn Obst Biol Repr* 1972; I: 55-62.

97. ENHORNING C., ADAMS F. Surface properties of fetal lamb tracheal fluid. *Am J Obstet Gynecol* 1965; 92: 563-570.
98. SCARPELLI E.M. The surfactant system of the lung. Philadelphia. Ed Lea and Febiger, 1968: 9-15.
99. AUNN L.J., BHATNAGAR A.S. Use of lecithin sphingomyelin ratio in the management of the problem obstetric patient. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 115: 687-694.
100. BHAGWANANI S.G., FAHMY D., TURNBRILL A.C. Prediction of neonatal respiratory distress by estimation of amniotic fluid lecithin. *Lancet* 1972; 1: 635-639.
101. SPELLACY W.N., BUHI W.C. Amniotic fluid L/S ratio as an index of fetal maturity. *Obstet Gynec* 1972; 39: 852-857.
102. WITFIELDS C.R., CHAN W.H., SPROULE W.B., STEWARD A.D. Amniotic fluid L/S ratio and fetal development. *Brit Med J.* 1972; 2: 85-92.
103. GLUCK L., KULOVICH M. Lecithin/Sphingomyelin ratios in amniotic fluid in normal and abnormal pregnancy. *Am and Obstet Gynecol* 1973; 115: 539-544.
104. SCHULMAN J.A., DUEENAN J.T., SCARPELLI E.M., CHURCH E., AULA PAM L/S ratios amniotic fluid. Relation to neonatal condition and gestational age. *Obstet Gynec* 1972; 40: 697-703.
105. COPELAND W., STEMPEL C., LOTT J.A. et al Assessment of rapid test an amniotic fluid for estimation fetal lung maturity. *Am J bstet Gynecol* 1978; 130: 225-230.
106. MORRISON J.C., WHYBREW W.D., BUCOVAS E.T. The L/S ratio and shake test in normal and abnormal pregnancies. *Obstet Gynecol* 1978; 52: 410-417.
107. SAVONA-VENTUIRA C. Amniocentesis for fetal maturity. *Obstet and Gynecol Survey.* 1987; 42: 717-723.
108. HALLMAN M., KULOVICH M., KIRPATRICK E. et al Phosphatid and inositol and phosphatidglycerol in amniotic fluid: Indices of lung maturity. *Am Obstet Gynecol* 1976; 125: 613-619.
109. SMITH A.L., SCANLON J. Amniotic fluid D (-) Beta-hydroxybuty rate and dismature Newborn infant. *Am and Obstet Gynecol* 1973; 115: 569-574.

110. HENDRICKS C.H. Studies on lactic acid metabolism in pregnancy and labor. *Am and Obstet Gynecol* 1957; 73: 492-499.
111. BRZINSKI A., KOREN Z., PIEIFER Y., SULMAN F.G. The metabolism of Serotonin in amniotic fluid and *Obstet Gynecol Br commonw* 1962; 69: 661-668.
112. LOOSE R., PATERSON W.G., S-hydroxyindole acetic acid in amniotic fluid and fetal S-hydroxytryptamine metabolism and *Obstet Gynecol Br Commonw* 1966; 73: 647-653.
113. ALLER J. Estudio comparativo entre bilirrubina, creatinina y osmolaridad del Líquido amniótico como índices de madurez fetal. *Rev Obst Ginec Venezuela* 1971; 31: 351-358.
114. JOHANSON E.D.B., JONASSON L.E. Progesterone levels in amniotic fluid and plasma from women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1971; 50: 339-345.
115. KLOPPER A., WILSON G.R., SHEARMAN R.P. A method for the estimation of pregnanediol in amniotic fluid *J Obstet Gynecol Br Commonw* 1970; 77: 531-536.
116. YOUNGLAI E.V., EFFER S.B. Amniotic fluid progestins and estrogens in relation to length of gestation. *Am J Obstet Gynecol* 1971; 111: 833-839.
117. GILLET J.Y., DUPerval R., KELLER B., WOLFF F., MANDEL P., MULLER P. Le dosage de l'oestriol dans le liquide amniotique. *Gyn et Obst* 1971; 70: 447-452.
118. TROEN P., NILSSON B., WIDVIST N., DICZFALUSY E. Pattern of oestriol conjugates in human cord blood, amniotic fluid and urine of newborns. *Acta Endocr* 1961; 38: 361-367.
119. VAN LEEWEN L., JACOBY H., CHARLES D. Exfoliative cytology of amniotic fluid. *Acta Cytol* 1965; 9: 442-448.
120. VOTTA R.A. Líquido amniótico. Buenos Aires. Ed Medica Panamericana, 1975: 43-57.
121. BARNETT H.R., NEVIN N. The value of the Nile blue test in estimating fetal maturity in normal and complicated pregnancies and *Obstet Gynecol Br Commonw* 1970; 77: 151-157.

122. BROSENS I., GORDONS H. The estimation of maturity by cytological elamination of the Liquor amnii J Obstet Gynecol Br Commonw 1966; 73: 88-95.
123. NIELAND L.M., PARMLEY T.H., WOODRUF J.D. Ultrastructural observations on amniotic fluid cells. Am J Obstet Gynecol 1970; 108: 1030-1036.
124. WACHTEL E., GORDON H., OLSEN E. Citology of amniotic fluid J Obstet Gynecol Br Commonw 1969; 76: 596-602.
125. BROSENS I. Cytological Study of amniotic fluid with Nile blue sulphate staining. Acta Cytol 1966; 159: 10-16.
126. BISHOP E., CORSON S. Estimation of fetal maturity by cytologic elamination of amniotic fluid. Am J Obstet Gynecol 1968; 102: 654-661.
127. PINEDA S., AGUILAR J., NUNEZ V. Madurez fetal y estudio del Líquido amniótico. Ginec y Obstet Mex 1971; 129: 15-21.
128. GAUTHIER C., DESASDINS P., MACLEAN R.M. Fetal maturity: amniotic fluid analysis correlated with neonatal assessment. Am J Obstet Gynecol 1972; 112: 344-349.
129. MURPHY P.J. The estimation of fetal maturity with retarded intrantirine growth J Obstet Gynecol Br. Communw 1969; 76: 1070-1076.
130. BELITZKY R. Maduración, estado y desarrollo fetal en relación con parámetros del líquido amniótico. Consideraciones perinatológicas. Tesis Doctoral presentada en la Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de Córdoba. Argentina. 1973.
131. CARRERA J.M., SABATER J., SOLE M.T. Líquido amniótico: Estudio bioquímico y citogenético. En CARRERA M.: Diagnóstico Prenatal. Barcelona: Ed. Salvat, 1986; 161-176.
132. DIAZ-RECASENS J., RECASENS L. Anatomía fetal ecográfica. An Esp Pediatr 1985; 225, 22: 146-148.
133. HANSMAN M., HACKELOER B.J., STAUDACH A. Ultrasound Diagnosis in Obstetrics and Gynecology. New York: Springer Verlag, 1985; 286-293.

134. DIAZ-RECASENS J., RAMOS C., AYUSO C., BENITEZ J. El manejo prenatal de las enfermedades congénitas. *Información Terapéutica de la S.S.* 1988; 12: 141-157.
135. GILTIN D., BOESMAN M. Serum alphanfeto protein, albúmin and gamma-globulin in the conceptus *J Clin Invest* 1986; 45: 1826-1832.
136. BROCK D.I.H. Neural tube defects. En: *Early diagnosis of fetal defects.* Edimburg: Churchill Livingstone, 1982; 67-97.
137. BARBANTI A., IL. Cuadro proteico del Líquido amniótico volutato elettroforeticamente e sooi rapporti col siero materno e quello fetale. *Minerva ginec* 1956; 8:L 708-7015.
138. QUEENAN J.T. Amniotic fluid analysis. *Clin Obstet Gynec* 1971; 14: 505-510.
139. CANDIANI A., IL. Contenido proteico del líquido amniótico. A termini di gravidanze. *Minerva Ginec* 1956; 6: 706-717.
140. MENDELHALL H.W. Origen of amniotic fluid proteins. *Amer J Obstet Gynecol* 1970; 107: 1272-1273.
141. STREBEL L. Immuno-electro phorestische Untersuchungen im Fruchwasser vergleich mit Nabelschnurblutserum und muterlichen veneblutserum. *Bio Neonata* 1960; 2: 55-60.
142. FICHBACHER H., DUINLIVAN W.L.G. Qualitative and quantitative analyses of the proteins in human amniotic fluid. *Amer and Obstet Gynec* 1970; 108: 1051-1057.
143. AVIÑO J., BONILLA F., RUIZ E. Proteínas en Líquido amniótico. En: BONILLA-MASOLES F., TORRES J.V.: *Líquido Amniótico.* Barcelona: Ed. Científico-Médica, 1975; 123-142.
144. BRZEZINSKY A., SADOVSKY E., SAFRIR B. Eletrophoresis distribution of protein in amniotic fluid and maternal and fetal serum. *Amer J Obstet Gynec* 1961; 82: 800-803.

145. KARACHMER S., SHOR R., VEGA ROSALES G., CASTELAZO AYALA L. Estudio de las relaciones metabólicas feto-maternas. III. Las proteínas del Líquido amniótico del embarazo normal. *Ginecal obstet Mex* 1971; 30: 235-247.
146. MENTASTI P., IL. Proteinograma dei Líquido amniótico, valutazione con microelectroforesis zude pendiente. *Minerv Ginec* 1959; 1: 547-556.
147. DANCIS J., LIND J., ORATZ M., SMOLANS J., VARA P. Placental transfer of proteins in human gestation. *Amer J Obstet. Gynec* 1961; 82: 167-174.
148. MENDELHALL H.W. Serum protein concentrations in pregnancy. II. Concentrations in cord serum and amniotic fluid. *Amer J Obstet Gynec* 1970; 106: 581-585.
149. MCWAY D.G., RICARDSON M.V., HERTIG A.T. Studies of function of early human trofoblast. III. A Study of the protein structures of female fluid, chorionic and amniotic fluid by paper electrophoresis. *Amer J Obstet Gynec* 1958; 75: 699-707.
150. USASTEGUI-GOMEZ M., MORGAN D.F. Maternal origen of the group specific proteins in the amniotic fluid. *Nature* 1966; 212: 1600-1612.
151. GILLISIN D., KUMATE J., MORALES C., NORIEGA L., AREVALO N. The turnover of fluid amniotic protein in the human conceptus. *Amer J Obstet Gynec* 1972; 113: 632-640.
152. ZHAO Y G. Combined use of amniotic fluid acetylcholinesterase and alphapne-toprotein for prenatal diagnosis. *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1986; 21: 252-253.
153. VYTISKA E., GENGER H., HUMBER J. Amniotic alphaphetoprotein concentration in pregnancies with numerical chromosome aberrations. *Geburtshilfe frauenheildk*, 1986; 46: 732-734.
154. COORBES E.S., O'CONNELL N., GRINTER A., BATSTONE G.F. Comparison of a withinday solid-phase immunoradiometric assay with a solution-phase radioimmunuassay for the masurement of alphaphetoprotein in amniotic fluid. *J., Clin chem Biochem*, 1986; 24: 402-408.
155. BAXTER R.C., MARTIN, J.L., WOOD M.H. Two inmuoreactive binding proteins for insulin-Like growth factors in human amniotic fluid: relationship to fetal maturity *J Clin Endocrinol, Metab* 1987; 65: 423-431.

156. ASHWUOD E.R., CHENG G., LUTHY D.A. Maternal Serum alpha-fetoprotein and fetal trisomy-21 in women 35 years and older: implications for screening programs. *Am J Med Genet* 1987; 26: 531-539.
157. DERRINGTON M.M. SOOTHILL F.S. An immunochemical study of the proteins of amniotic fluid and of maternal and foetal serum *J Obstet Gynecol Brit commonwlt* 1961; 68: 755-763.
158. CARGNELLO U., D'ANDREA A. Componente elettrofitica e proteica nel liquido amniotico dei polidramnios. *Attualita Obstet Ginec* 1967; 12: 99-113.
159. ROSA P. Etude de la circulation du liquide amnionique humain. *Gynec et Obstet* 1951; 50: 463-476.
160. DEVLIN T.M.: Estructura y transporte a través de las membranas biológicas. En: DEVLIN T.M. *Bioquímica I*. Barcelona: Reverte, 1986; 206-241.
161. DEEN W., MIERS B.D., BRENNER B.M. The glomerular barrier of macromolecules: theoretical and experimental considerations. In: BRENNER B.M., STEIN J.H.: *Nephrotic syndrome*. New York: Churchill-Livingstone, 1982; 1-29.
162. ANAGNOSTOPOULOS T. Transporte a través de las membranas y epitelios. En: MEYER P.: *Fisiología Humana*. Barcelona: Salvat Ed. 1985; 10-38.
163. ARDIALLOU R. Funciones metabólicas del riñón. En: MEYER P.: *Fisiología Humana*. Barcelona: Salvat Ed, 1985; 576-579.
164. BOYD D. Placental transport: diversity and complexity. *Archives of Disease in child*, 1987; 62. 1205-1206.
165. SUZUKI K. Crecimiento fetal y medio intrauterino. En: NOTAKE Y., SUZUKI S.: *Aspectos biológicos y clínicos del feto*. Barcelona: Salvat, 1980; 15-17.
166. BURGHARD R., PALLACKS R., GORDJA N.I.N. Microproteins in amniotic fluid as an index of changes in fetal renal function during development. *Pediatr Nephrology* 1987; 1: 574-580.
167. PEDRERO J., LINARES M.D., BARAJAS D., ALVAREZ A., PECO B. La Selectividad de la proteinuria como parámetro de madurez fetal. *Arch. de Pediat*, 1986, 37: 53-58.

168. BROCK D.J. Amniotic fluid alpha-2-macroglobulina and antenatal diagnosis of Spina bifida and anencephaly. *Clin Genet* 1975; 8: 297-301.
169. SORENSEN D., BRODBECK U., NORGAARD-DEDERSEN B. Determination of neuron specific enolase in amniotic fluid and maternal serum for the prenatal diagnosis of fetal neural tube defects. *Clin chim Acta* 1987; 162:101-104.
170. ENGLE W.D., ARANT B.S. Renal handling of Beta-2-microglobulina in the human neonate. *Kidney Int* 1983; 24: 358-365.
171. TAKIEDDINE F., TABBARA M., HALL P. Fetal renal maturation studies on urinary Beta-2-microglobulina of neonate. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1983; 62: 311-314.
172. POULAKKA J., OSTALO Y.L., TUIMALA R. Amniotic fluid Beta-2-microglobulina in normal and complicated pregnancies. Correlation with gestational age, creatinine, and L/S ratio. *Gynecol Obstet Invest* 1982; 13: 129-134.
173. VESCE F., COCILOVO G., TATARANNI G. Amniotic fluid Beta-2-microglobulin as an index of fetal maturity. *Clin Ex Obstet Gynecol* 1981; 8: 66-69.
174. PANRUCKER D.E., LAI P.C., LORSCHIEDER F.L. Distribution of acute phase Alpha-2-macroglobulin in rat fetomaternal compartements. *Am J Physiol* 1983; 245: E1 38-42.
175. ROBERTS R. Sistema Internacional de Unidades. *Pediatrics* (ed. Español), 1989; 27: 47-50.
176. MOUNIER F., GUBLER M.C. Development embryofœtal du rein. In : ROYER P., HADIB R., BROYER M., MATHIEN M.: *Nephologie Pédiatrique*. Paris: Flammarion Medicine-Sciences, 1983: 11-13.
177. CARRERA J.M., ALEGRE M., TORRENTS M. Anomalías Nefrourológicas. En: CARRERA J.M.: *Diagnóstico Prenatal*. Barcelona: E. Salva, 1986; 465-483.
178. SOLE-BALCELLS., F. Embriología. En: GARAT J.M., GOSALBEZ R.: *Urología Pediátrica*. Barcelona: Salvat Ed, 1987; 1-11.
179. BERSTEIN J., CHENG F., ROSK J. Glomerular differentiation in metarep-hirc culture. *Lab. Invest* 1981; 45: 183-190.

180. MCCRORY W.W. Embryonic development and prenatal maturation of the Kidney. In: EDELMAN C.M.: Pediatric Kidney Disease. Boston: Little Brown, 1978; 3-25.
181. POTTER E.L. Normal development. In: POTTER E.L.: Normal and abnormal development of the kidney. Chicago: Year Book medical publishers, 1972; 3-79.
182. VALLANCIEN G. La fonction renale foetale. *J d'Urologie et Nephrologie*, 1978, 6: 409-414.
183. HOUSTON I.B. Perinatal renal function In: SPITZNER A: The Kidney during development. New York: Masson Publishing, 1982; 313-314.
184. RODRIGUEZ SORIANO J. El riñón fetal. *Ann. Esp Pediatr.* 1982; 16: 255-256.
185. FAKUDA Y., LARSSON S., CELSI G. Use experimental models to study the development of renal function. *Biologie Neonate* 1988; 53: 197-200.
186. GUIGNARD J.P., GOUYON J.B. Adverse effects of drugs on the immature kidney. *Biol Neonate* 1988; 53: 243-252.
187. ROBILLARD J.E. Development of Function in fetal Kidney. In: HOLLIDAY, M.A., BARRAT TM, VERNIER, R.L.: *Pediatric Nephrology*. Baltimore: Williams and Wilkins, 1987; 901-911.
188. GUIGNARD J.P. Function renal en el neonato. *Clin Pediatr N.A.* 1982; 4: 753-765.
189. JONASSON L.E., EVRIN R.E., WIBELL L. Content of Beta-2-microglobulin and albumin in human amniotic fluid. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1974; 53: 49-58.
189. KJASHIWABARA Y., SHINOKA W.A. M., MAESHAO S. Origin of low molecular weight protein in amniotic fluid. *Nippou Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1984; 36: 705-709.
190. BONNET M., GUIBAUD S., BORNETT M., Dosage de la Beta-2-microglobulin dans la liquide amniotique. *Rev Fr Gynecol Obstet* 1977; 72: 817-822.
191. ABBAS T.M., TOVEY J.E. Proteins in liquor amnii. *Br Med J.* 1960; 1: 476-481.

193. ARANT B.S. Glomerulo-tubular balance following Saline loading in the developing canine Kidney. *Am J Physiol* 1978; 253: F-417-423.
194. ARANT B.S. Developmental patterns of renal functional maturation compared in the neonate *J Pediat* 1978; 92: 705-710.
195. APERIA A., SIEGEL S.R., OH W. Renal functional maturation in the human infants. *Acta Paediatric Scand* 1976; 65: 481-486.
196. ARANT B.S. Nonrenal factors influencing renal function during the perinatal period. *Clinics in Perinatology* 1981; 8: 225-230.
197. FAWER C.L., TORRADO H., GUIGNARD J.P. Maturation of renal function in full-term and premature neonates. *Helv Paediatr Acta* 1979; 34: 11-15.
198. OH W. Renal functions and clinical disorders in the neonate. *Clin. Perinatology* 1981; 8: 215-220.
199. LEAVER D., TRYGSTAD C.W., OH W. Inulin clearance in the newborn infant. Relationship to gestational and postnatal age. *Pediat Res* 1976; 10: 759-764.
200. ROSS B., COWWETT R.M., OH W. Renal functions of low birth weight infants during the first months of life. *Pediat Res* 1977; 11: 1162-1168.
201. EDELMAN C.M., SPITZER A., The maturing Kidney and *Pediat* 1969; 75: 509-514.
202. HALL P.W., ROUX J.F. Amniotic fluid Beta-2-microglobulina concentration an index gestational age. *Am J Obstet Gynecol* 1974; 120: 56-61.
203. APERIA A., BRUBERGER O., THODENINS K. Renal response to an oral sodium load in newborn full-term infants. *Acta Paediat Scand* 1972; 61: 670-678.
204. ALEXANDEF D.P., BASHORE R.A., BRITON H.G., FORSLING M.L. Antidiuretic hormone and oxytocin release and antidiuretic hormone turnover in the fetus and antidiuretic hormone turnover in the fetus lamb and ewe. *Bio Neonate* 1976; 30: 225-234.
205. BENZONI D., VICENT M., BENTEND B., SASSARD J. Urinary excretion of prostaglandins and electrolytes in developing children. *Kidney Int* 1981; 20: 386-390.

206. DE VANE G.W., POTTER J.C. An apparent Stress-induced release of arginine-vasopressin by human neonates. *Clin. Endocrinol.* 1980; 51: 1412-1418.
207. DE VANE G.W., NADEN R.P., POTTER J.C., FELD C.R. Mechanism of arginine-vasopressin release in the sheep fetus. *Pediat Res*, 1982; 16: 504-510.
208. DUDGEON D.L., SPOON D.A., RANDALL P.A., SPITZER R.E. The effects of combined hypothermia and hypoxia on regional perfusion in the neonate piglet. *Pediat Res* 1980; 15: 479-484.
209. GODAR C., GEERING J.M., GEERING K., VALLOTTON M.B. Plasma renin activity related to sodium balance renal function and urinary vasopressin in the newborn infant *Pediat Res* 1979; 13: 742-747.
210. GODAR C., VALLOTTON M.B., FAVRE L. Urinary prostaglandins, vasopressin and kalikrein excretion in healthy children from birth to adolescence and *Pediat* 1982; 100: 893-903.
211. BERL T., RAZ A., WALD H., HOROWITZ J., CZACKES W. Prostaglandin synthesis inhibition and the action of vasopressin: studies in man and rat. *Am J. Physiol* 1977; 232:F29-35.
212. JOPICH R., HABERE D.A., WEBER P.C. Studies on the immaturity of the ADH-dependent AMP_c systems in conscious newborn piglets. Possible impairment effects in renal prostaglandins. *Pediat. Res* 1981; 15: 278-284.
213. DUSTING G.J., MONCADA S., DE VANE J.R. Recirculation of prostacyclin in the dog. *J. Pharmacol* 1978; 64:313-320.
214. MACKENZIE I.Z., MCLEAN D.A., MICHELL M.D. Prostaglandins in human fetal circulation in mid trimester and term pregnancy. *Prostaglandins* 1980; 20: 649-655.
215. LOHMEIER T.E., COWLEY A.W., TRIPPODO N.C. Effects of endogenous angiotensin II on renal sodium excretion and renal hemodynamics. *Am J. Physiol* 1977; 233: F388-391.
216. MOUROTA S.I., MORITA I. Effect of prostaglandin I₂ and related compounds on vascular permeability responses in granuloma tissues. *Prostaglandins* 1978; 15: 297-299.

217. ARANT B.S., TERRAGNO N.A., TERRAGNO D.A. Effect of changing plasma volumen on blood pressure in neonatal puppies. *Fec Proc* 1979; 38: 359-364.
218. GERBER J.C., VOEKEL N., NIES A.S., M. CMURTRY I.F., PREVES J.T. Moderation of hipoxic vasoconstriction by infused arachinodis acid: Role of PGI₂ *J APPL PHYSIOL* 1980; 49: 107-111.
219. ELIOT R.J., LAM R., LEAKE R.D., HOBEL C.J., FISHER D.A. Plasma catecholamine concentrations in infants at birth and during the first 48 hour of hife *J Pediat* 1980; 96: 311-315.
220. LEWIS A.B., EVANS W.N., SISCHO W. Fetal catecholamine response to hypoxemia. *Pediat Res* 1980; 15: 484-490.
221. KAZIMIERZAK J. Development of renal corpuscule and the yuxtaglomerular apparants. *Acta Path Microbiol Scard* 1971; suppl: 218-223.
222. SAMM L., COIFFET J., BETHENOD S.J. Hyponatremia neonatale d'origine maternelle. *Nouv Presse med* 1979; 8: 199-206.
223. SPARAMO F., SCIARRA F., NATOLI G., MERCURIMA, ODDARDE A. Behariour of plasma aldostemne during the first 72h of life. *Clin Endocrinol* 1978; 8: 207-211.
224. ASSADI F.K., JOHN E.G., JUSTICE P., FONELL L. Beta-2-microglobulin clearance in neonates: index of tubular maduration. *Kidney Intern*, 1985; 28: 153-157.
225. GONZALEZ GOMEZ F., SABATELL R.M., SALAMANCA A. Biophia corial and amniocentesis precoz. En: COLBUS M.S., GONZALEZ GOMEZ F. *Diagnostico Prenatal y Terapia Fetal*. Granada: Universidad de Granada, 1988; 69-79.
226. YU H., YANAGISAWA Y., FORBES M.A., COOPER E.H., CROCKSON R.A.A, MACLENNAN I. Alfa-1-microglobulin, index of the renal tubular function *J clin Pathol* 1983; 36: 253-259.
227. CAMERON J.S., BANDFORD G. The simple assesment of selectivity in heavy protenuria. *Lancet* 1966; 30: 342-347.
228. FOULDS J.W., PENNOCK C.A. Amniotic fluid creatinine: an unreliable index of fetal maturity *J obstet Gynecol Br Commonw* 1972; 79: 911-915.

229. SCARPIONI L., HEER E.E. Fisiopatología de la proteinuria. En SCARPIONI L., HEER E.E. Fisiopatología proteica de las nefopatías. Buenos Aires. Ed Médica panamericana. 1977; 9-23.

230. ARTURSON G., GROTH T., GROTHE G. Humor glomerular membrana porosity and filtration pressure: dextran clearance data analysed by theoretical models. Clin Sci 1971; 40: 137-144.

231. FLYNN F.V., PLATT H.S. The origins of proteins excreted in tubular proteinuria. Clin chim Acta 1968; 21: 377-382.

232. MANCINI G., CARBONARA A., HAREMANS F. In: immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochem 1965; 2: 235-239.

233. PETRIE J.J.E., CLELAND J.F., MCLEAN P.R., ROBSON J.S. Glomerular permeability during proteinuria induced by plasma infusion. Clin Sci 1970; 39: 383-389.