

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

**“OBTENCION DEL PERFIL ACIDO - BASICO
EN SANGRE FETAL”**

220

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a

ROBERTO GUEVARA YAÑEZ

México, D. F.

1 9 7 6



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CLAS Tesis
ABO 1946
FECHA 1946
PROC 147

222



QUIMICA

Jurado asignado originalmente según el tema:

PRESIDENTE: Q. F. B. Ramón Guevara Estrada.

VOCAL: Q. F. B. Ma. Elena Bustamante Calvillo.

SECRETARIO: Q. F. B. Esther Gutiérrez Hidalgo.

1er SUPLENTE: Q. F. B. Leticia Carrasco Rivera.

2do SUPLENTE: Q. F. B. Josefina Piedras Ross.

Sitio donde se desarrolló el presente trabajo de tesis:

DEPARTAMENTO DE INVESTIGACION. HOSPITAL DE GINECO-OBSTETRICIA No 1 DEL I.M.S. S.

DIRECTOR DE TESIS:

Q.F.B. ESTHER GUTIERREZ HIDALGO.

SUSTENTANTE:

ROBERTO GUEVARA YAÑEZ.

A la Maestra:

ESTHER GUTIERREZ HIDALGO

con cariño admiración y respeto.

Con agradecimiento al Departa
tamento de Investigación en
especial al

DR SAMUEL KARCHMER.

A mi madre y hermanos.

A todos ustedes que me ayudaron durante mi carrera.

I N D I C E

	pag
Introducción	1
Generalidades	2
Material y Métodos	10
Resultados	20
Discusión y Conclusiones	25
Resumen	28
Bibliografía	29

I N T R O D U C C I O N

El estudio del desarrollo fetal y del recién nacido ha tenido un gran incremento durante los últimos diez años. El conocimiento precoz de las condiciones prevalcientes en el organismo del neonato, en cuanto a su adaptación al nuevo medio ambiente, es fundamental para poder proporcionarle un manejo adecuado. La metodología empleada debe tener como base un conocimiento profundo del desarrollo biológico del feto, así como la selección tecnológica de los métodos más seguros y confiables.

Hasta hace poco tiempo sólo se disponía de los signos vitales para la vigilancia clínica del recién nacido. En la actualidad existen determinaciones bioquímicas que permiten tener una información más completa a cerca del funcionamiento de los macanismos de adaptación del niño; entre estas se encuentra el denominado convencionalmente equilibrio ácido--base en el cual se han elegido análisis claves, tales como la concentración de iones hidrogeno (pH), la presión de oxígeno (pO_2), la presión de anhídrido carbónico (pCO_2), la concentración de hemoglobina etc., todos estos datos aportan información sobre lo que ocurre en el medio interno de ese organismo respecto a la acidez, alcalinidad, hipoxemia y capacidad de la hemoglobina para transportar adecuada can

tividad de oxígeno a los tejidos, por lo que el estudio de la hemoglobina fetal y la adulta es muy importante.

En síntesis, los análisis mencionados informan sobre el estado del medio interno y el funcionamiento de los sistemas amortiguadores, así como sus compensaciones, tanto metabólicas como respiratorias.

Hasta el presente existe la tendencia en la literatura médica de comparar los datos obtenidos de los estudios practicados - en sangre fetal, con los parámetros del adulto, si bien esto proporciona alguna utilidad en el campo de la medicina también es evidente que se está cometiendo un error de interpolación, lo cual manifiesta la necesidad de valores de referencia.

El propósito de este trabajo es conocer la proporción de hemoglobina fetal que se encuentra en los vasos del cordón umbilical de los fetos de nuestro medio, y en ellos practicar simultáneamente el estudio del equilibrio ácido-básico que permita la elaboración de un cuadro.

G E N E R A L I D A D E S

HEMOGLOBINA.- La molécula de la hemoglobina (Hb) humana tie ne un peso molecular de aproximadamente 66.000 (7); está for mada por cuátro subunidades: dos pares de cadenas polipetíd*í* cas que pueden ser alfa 2, beta 2,; alfa 2, gama 2, etc. Con estructura terciaria en disposición tetraédrica. El complejo porfirínico-ferroso es el centro activo en la reacción rever sible del pigmento con el oxígeno y el anhídrido carbónico,- cuatro cadenas polipeptídicas con cuatro grupos heme comple tan la molécula de Hb. La función principal de la Hb es la - de transportar el oxígeno (O_2), cuando se encuentran oxigena das las cadenas beta se acortan sin sufrir cambio estructu-- ral significativo (4).

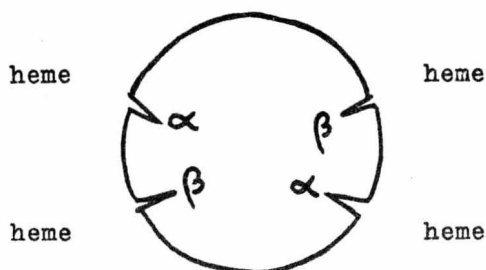


Diagrama esquemático de una molécula de HbA.

Fuente: Rapaport S.: Introduction To Hematology. Ed Harper and Row. N.Y. London., pag 61, 1971.

Schroeder en 1963, observó que en la Hb adulta (HbA) los dos pares de cadenas difieren en el número y clase de los bloques de aminoácidos (A.A.), que los constituyen; la cadena denominada alfa contiene 141 A.A., mientras que la cadena beta tiene 146. La HbA se ha analizado por métodos electroforéticos - los cuales muestran que se encuentra constituida por tres tipos de Hb: HbA₁ = 90-95 %, HbA₂ = 2-3 %, HbF = 2 %, la diferencia existente está en el segundo par de cadenas, así se tiene que:

HbA₁ = alfa dos - beta dos.

HbA₂ = alfa dos - delta dos.

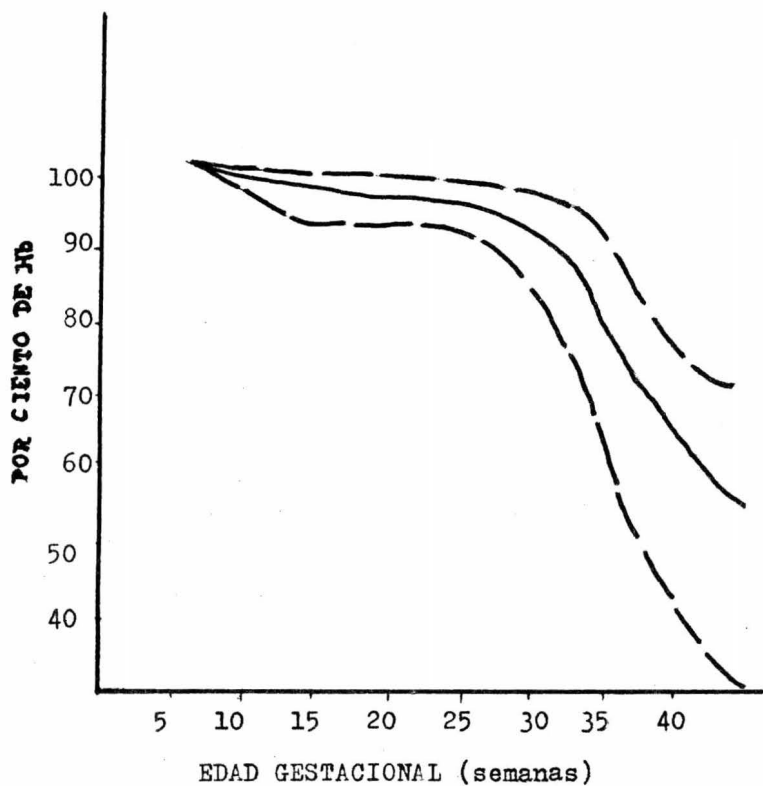
HbF = alfa dos - gama dos.

En 1866, se descubrió que la HbF, es diferente de la adulta, se vió que se encuentra constituida por cuatro cadenas polipeptídicas, dos de ellas son alfa que también aparecen en la HbA₁ y HbA₂; las cadenas no alfa llamadas gama contienen 146 residuos de A.A, igual que las beta y las delta, sus residuos son idénticos a los de las cadenas beta en 107 posiciones, no así en los 39 restantes. La cadena gama contiene isoleucina, este A.A, falta en las cadenas alfa, beta, y delta. De acuerdo con esto se observa que la diferencia entre la HbF y la HbA es tanto cualitativa como de estructura secuencial en las cadenas gama, debido principalmente a un solo A.A, la Isoleucina.

SINTESIS DE LA HEMOGLOBINA.- En el embrión, las células primitivas que contienen la Hb son transitorias y las reemplazan otras anucleadas, las sucesivas localizaciones de la hematopoyesis en el embrión son bastante bien conocidas: saco vitelino; mesénquima y células endoteliales; hígado; bazo; ganglios linfáticos; timo y finalmente médula osea. En cada sitio la síntesis llega a su punto máximo y después decae. Al finalizar el segundo trimestre la producción se incrementa notablemente en la médula osea (10).

La formación de la Hb debe de comenzar durante la diferenciación celular sanguínea, ya que tanto el eritrocito como el reticulocito maduros contienen el pigmento. La Hb comienza a elevarse en el proeritroblasto, la síntesis puede continuar después de que el normoblasto ha perdido su núcleo y se convierte en reticulocito circulante, lo cual demuestra que este proceso sólo depende indirectamente del núcleo (9). A lo largo de la gestación decrece la cantidad de HbF. En las últimas cuatro semanas esta variación es más amplia. Después del nacimiento la HbF disminuye rápidamente hasta tomar un curso paralelo al que presenta la HbA, lo cual ocurre alrededor de las 12 semanas, grafica 1.

G R A F I C A No 1



Las líneas punteadas representan el máximo y el mínimo contenido de la HbF la línea continua la Media aritmética.

Fuente: Barnes A.C.: Desarrollo Intrauterino. Ed Salvat, España.
pag, 38, 1970

Thorell, en 1949, observó que la síntesis de la Hb es proporcional a la concentración de RNA en el citoplasma y que cesa cuando este se agota, de lo anterior se deduce que los reticulocitos pueden sintetizar Hb.

Dintz en 1961, demostró con la incorporación de A.A, marcados con ^{14}C , que la reunión de las cadenas polipeptídicas de la globina - tiene lugar sobre la superficie matriz de una molécula de RNA; un RNA mensajero unido a cuatro o cinco ribosomas, denominado ergosoma. Los diversos A.A, son activados por el RNA de transferencia - específico que también las acopla a las cadenas con un considerable gasto de energía. Las cadenas alfa y beta son sintetizadas - en un promedio de 1.5 por minuto por tanto la velocidad de crecimiento es de aproximadamente de dos residuos de A.A, por segundo. Basándose en estos hechos Jonxis en 1959, (10) dedujo que durante el periodo de cinco días de diferenciación embrionaria, en cada eritrocito se sintetizan aproximadamente 3×10^8 moléculas de Hb; considere también que en cada división celular hay un receso temporal de la síntesis de la Hb, mientras que la molécula de RNA es reemplazada por otra nueva de origen nucleico. Cuando la célula - pierde su núcleo el cambio cesa y se convierte en una célula incapaz de sintetizar Hb.

Koerberg (3) descubrió que la Hb de una persona anormal presentaba una resistencia mayor a la desnaturalización alcalina o ácida,

desde entonces se han encontrado muchas diferencias entre las hemoglobinas debido a sus propiedades fisicoquímicas.

La resistencia a la desnaturalización alcalina constituye la base de la técnica de Singer-Chernoff, publicada en 1951(14) y del método de Betke-Kleihauer que se utiliza para determinar clínicamente la HbF presente en una solución. Para explicar este comportamiento anormal de la HbF, Schroeder señala que puede deberse a la mayor cantidad de triptofano y a la menor cantidad de tiroxina. Normalmente la HbF contiene las fracciones F y F₁. La F₁ difiere solamente de la F en que se encuentra acetilada la porción terminal de una de sus cadenas gama en un 10 %.

Las principales diferencias entre las hemoglobinas mencionadas se anotan en el cuadro No 1.

Al hacer una comparación entre la HbA y la HbF se ha observado que presentan algunas propiedades similares pero en grado diferente - por ejemplo: ambas son solubles sobre yodo en soluciones de fosfatos, sin embargo la solubilidad de la HbF es mayor que la de la adulta, además también presentan diferencias en el contenido de A.A y la secuencia de los mismos.

C U A D R O No 1

HbA

HbF

Desnaturalización con álcali.	Menos resistente.	Más resistente.
Solubilidad (sobre yodo en soluciones de - fosfato)	Menos soluble	Más soluble.
Estructura cristalina.	Diferente a la HbF.	Diferente a la HbA.
Análisis espectrofotométrico en el U.V.	Banda de estructura fina en triptofano a 291 mu.	Banda de estructura fina en triptofano a 293 mu.
Punto isoeléctrico.	6.98 .	6.87.
Comportamiento como película monomoléculas - en solución de fosfatos.	Más rápida.	Más lenta.
Movilidad electroforética en gel de almidón y sobre celulosa.	Más rápida.	Más lenta.
Actividad peroxidante.	Menor.	Mayor.
Comportamiento de A.A.	No contiene isoleucina.	Tiene tres residuos más de valina y - cuatro grupos más de aminolisina, <u>con</u> tiene isoleucina.
Inmunología.	Especificidad.	Especificidad.
Afinidad para el O ₂ .	Tiene una afinidad idéntica a la HbF.	Tiene una afinidad idéntica a la HbA.

Fuente: Barnes A.C.: Desarrollo intrauterino. Ed Salvat, España.

M A T E R I A L Y M E T O D O S

Se estudió la sangre contenida en los vasos umbilicales de 34 fetos, hijos de madres sin antecedentes patológicos, con embarazo y parto normal. Los cordones se pinzarón antes de que el feto realizara su primera inspiración.

La muestra de sangre se extrajo tanto de vena como de arteria, por medio de dos jeringas heparinizadas, evitando la introducción de burbujas de aire y se procedió a su análisis inmediatamente.

A cada muestra se le investigaron los valores relacionados con el equilibrio ácido-base, tales como pH actual, pCO_2 , Hb, hematocrito (Ht), exceso de base (EB) . Para llevar a cabo las gasometrías se utilizó el equipo ideado por Astrup (24). Los resultados obtenidos se graficaron en el nomograma de Siggaard Andersen-Engel (17).

El método empleado para el Ht fué el de Wintrobe, modificado para el microhematocrito (1, 30).

El estudio de la Hb estuvo dirigido a cuantear su contenido de HbA y HbF, así como la suma de ambas; para el efecto se utilizarón las técnicas de Singer-Chernoff (14) y Kleihauer-Betke

(15) así como la de Drabkin (21).

A cada una de las muestras se les determinarán tres valores de pH el primero corresponde al pH actual, el segundo y el tercero se obtienen previa saturación de la sangre con dos mezclas de oxígeno (O₂) y de bioxido de carbóno (CO₂) a concentraciones diferentes. Los valores del pCO₂ en mm de Hg correspondientes a cada uno de estas mezclas se obtienen mediante la siguiente formula; (22).

$$pCO_2 = \frac{pB - pV_{H_2O} \times \%CO_2}{100}$$

En donde la presión barométrica (pB) en mm de Hg, menos la presión parcial del vapor de agua (47 mm de Hg de pV_{H₂O}) multiplicado por los volúmenes de CO₂, dividido todo lo anterior entre cien.

Los valores de pH así obtenidos se anotan en la gráfica y se unen por medio de una línea recta. El punto donde la línea trazada cruza la curva de exceso de base da la lectura correspondiente a este componente. En la intersección de la recta trazada con la línea de base buffer y del bicarbonato estandar se obtienen los valores de los mismos. La base buffer indica la cantidad total de amortiguación de la sangre. El bicarbonato actual se obtiene trazando un ángulo de 45 grados -

cuyo vértice es el punto de cruce de las líneas anteriores y conteniendo siempre a la segunda.

El CO_2 total se obtiene añadiendo al dato del bicarbonato actual a la cantidad obtenida al multiplicar 0.03 por la pCO_2 .

El valor de 0.03 se obtuvo originalmente de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{base}]}{[\text{ácido I}]}$$

$$\text{Substitución: } 7.4 = 6.1 + \log \left(\frac{\text{CO}_2 + \frac{\alpha \times 1000}{22.6 \times 760} \times \text{pCO}_2}{\frac{\alpha \times 1000}{22.6 \times 760} \times \text{pCO}_2} \right)$$

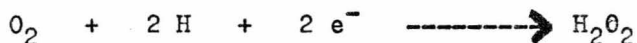
$$\text{en donde } \frac{\alpha \times 1000}{22.6 \times 760} = 0.0301014268.$$

Este dato representa todo el anhídrido carbónico de la sangre, que es la suma del CO_2 disuelto, del ácido carbónico, de los iones bicarbonato y de los compuestos carbaminados. En la práctica se considera que representa únicamente la suma del CO_2 disuelto (1.2 mM) y de los bicarbonatos (24 mM).

El EB se expresa en mEq/l de sangre. El bicarbonato actual, el bicarbonato estándar, el CO_2 total, en mEq/l de plasma; la pCO_2 en mm de Hg.

La p_{O_2} se determina por medio del electrodo de Clark (22) este consta de una combinación de un cátodo de platino y un ánodo - de plata cloruro de plata de 20 micras de diámetro interno, pu esta en una solución electrolítica que está separada por una membrana de plástico, usualmente de polipropileno.

La solución electrolítica es un amortiguador de fosfatos con un poco de cloruro de potasio que ha sido añadido para estabilizar el potencial del ánodo. Se aplica a los electrodos una corriente que reduce al platino.



La cantidad de este gas que se difunde es directamente proporcional a la presión que soporta. La operación se lleva a cabo en un circuito cerrado y a una temperatura constante de 38° C. El electrodo se calibra utilizando una solución de borax 0.01M de pH 9.2 y adicionándole cristales de sulfito de sodio, esta sirve para llevarla a cero.

El punto alto del electrodo se busca utilizando una solución completamente oxigenada y a una presión de O_2 conocida, para ello sabiendo que el análisis de aire ha mostrado en su composición 20.93 % de este gas y la media aritmética de la presión barométrica de la Ciudad de México es de 590, se apli-- can los siguientes calculos:

$$pO_2' = \frac{pB - pV_{H_2O}}{100} \times O_2 \%$$

$$pO_2 = \frac{590 - 47}{100} \times 20.93 = 113.6 \text{ mm de Hg.}$$

A continuación se describirán los métodos empleados para la obtención de los valores incluidos en el presente trabajo.

METODO DE LA CIANOMETA HEMOGLOBINA.

Para determinar la cantidad de hemoglobina se utilizó la presente técnica, la cual se basa en la propiedad que tiene la hemoglobina de reaccionar con el ferricianuro y formar meta-hemoglobina, la cual con cianuro de potasio forma la cianometa-hemoglobina, que queda en solución colorida estable y sigue la ley de Beer-Lambert (23) esto permite su cuantificación fotocolorimétrica.

Procedimiento:

- 1.- Se colocan cinco ml de la solución de cianometa (reactivo de Drabkin).
- 2.- Se pipetea en el reactivo, exactamente 0.02 ml de sangre total con una pipeta de Sahli debidamente calibrada, y se

mezclan.

- 3.- Para que se forme la cianometa-hemoglobina se deja reaccionar durante 10 minutos.
- 4.- La solución obtenida se lee en un espectrofotómetro, en celdillas de 12 x 75 mm, a longitud de onda 540 nm contra blanco de solución de Drabkin se utilizó en el presente estudio un espectrofotómetro Coleman Junior II G-35.

HEMATOCRITO.

El Ht es el volumen de eritrocitos expresado en por ciento del volumen total de la sangre, para su determinación se empleó el método de Wintrobe modificado para el microhematocrito.

Procedimiento:

En tubos capilares de aproximadamente 7cm de longitud, con un diámetro interior de 1 mm, se llenan aproximadamente hasta no menos de 1cm de su extremo superior, el cual se cierra con --plastilina. Los tubos llenos se colocan en las ranuras radiales de la cabeza de una centrífuga para microhematocrito y se centrifuga a 10397 RCF. Se hace una relación entre el volumen total y el paquete globular, se reporta en por ciento.

IDENTIFICACION DE HbF.: METODO DE LA ELUCION ALCALINA DE SINGER-CHERNOFF.

Fundamento.- Se basa en la propiedad que tiene la HbF de resistencia a los álcalis, a diferencia de la HbA, la cual a pH alcalino con sulfato de amonio, deja libre la HbF la cual se cuantifica finalmente por el método de la cianometa-hemoglobina.

Reactivos:

- 1.- Solución de Hidroxido de sodio al 0.1 N.
- 2.- Solución de sulfato de amonio al 50 % de saturación . (A un volumen de solución saturada de sulfato de amonio se le adiciona un volumen igual de agua destilada más una cantidad proporcional de ácido clorhídrico concentrado, en el presente estudio se preparó de la siguiente manera: a 1000 ml de solución saturada de sulfato de amonio se le agregarón 1000 ml de agua destilada más 5ml de ácido clorhídrico concentrado).

Procedimiento.

- 1.- Separar el plasma por centrifugación y eliminarlo.
- 2.- Lavar los glóbulos rojos con solución salina fisiologica tres veces.
- 3.- Después del último lavado, añadir al paquete globular un

volumen de agua destilada y medio volumen de tolueno.

4.- Centrifugar a 12 000 - 15 000 rpm, durante 15 a 20 minutos.

5.- Eliminar el tolueno y el estroma que quede encima del centrifugado.

6.- Filtrar con papel filtro común (humedeciéndolo para evitar que se quede pegada la muestra en el caso de ser esta muy pequeña).

7.- Ajustar la muestra a 10 g dl agregando agua destilada, en caso de que tenga más de 10 g dl se hace el cálculo correspondiente por medio de una simple regla de tres. Si la muestra tiene menos de 10 g dl se trabaja así .

8.- Del hemolizado medir exactamente 0.2 ml y ponerlo en un vaso de precipitados.

9.- Agregar 3.2 ml de solución de hidróxido de sodio 0.1 N y mezclar.

10.- Exactamente al minuto (medido con cronómetro) agregar 6.4 ml de sulfato de amonio al 50 %

11.- Mezclar y filtrar.

12.- Del filtrado medir 4 ml y adicionarles 1 ml del diluyente

de hemoglobina, leer a 540 mu de longitud de onda.

13.- Cálculos , se toma el dato de la concentración inicial como el 100 % y el dato obtenido después de la técnica como "x" se hace una regla de tres, se reporta en por ciento.

IDENTIFICACION DE LA HbF.: POR EL METODO DE LA ELUCION ACIDA DE BETKE-KLEIHAUER, MODIFICADO POR DOMINGUEZ-GUTIERREZ (20).

Fundamento:

Utiliza la característica que tiene la HbF de resistir a los ácidos, a diferencia de la HbA. En las extensiones sanguíneas después de un tratamiento ácido y de teñir con el colorante de Wright, se pueden diferenciar claramente los eritrocitos llenos conteniendo la HbF y los vacíos en los cuales se ha eluido la HbA, para facilitar la observación se utiliza un microscopio de contraste de fase, ya que en uno normal la observación es algo más difícil de hacer.

Reactivos:

1.- Etanol al 80 %

2.- Solución "a" ácido cítrico 0.1 M.

3.- Solución "b" fosfato ácido dipotásico 0.2 M.

Procedimiento:

- 1.- Preparar una dilución de la sangre 1:3 con agua destilada.
- 2.- Hacer un frotis lo más delgado posible.
- 3.- Secar 10 minutos a temperatura ambiente.
- 4.- Sumergir en alcohol al 80 % durante cinco minutos.
- 5.- Secar y meterlo en la mezcla de las soluciones "a y b" (73.4 partes de la solución "a" y 26.6 de la solución "b" la mezcla se estas soluciones deberá tener un pH final entre 3.3 a 3.4 a 37°C) durante cinco minutos.
- 6.- Secar y lavar con agua destilada.

Hacer simultáneamente controles positivos y negativos de la técnica. Observar los frotis al microscopio de contraste de fase y contar las células; las que contienen la HbF se encuentran completamente llenas en cambio las que contienen la HbA se presentan vacías. Se hace una regla de tres para calcular el tanto por ciento de los eritrocitos que contienen la HbF.

En el presente estudio se contarán 3.000 células en cada extensión sanguínea.

R E S U L T A D O S

En los 34 cordones umbilicales estudiados se obtuvieron 68 muestras 34 para arteria umbilical y 34 para vena umbilical a cada cordón se le practicaron un promedio de 16 análisis haciendo un total de 544. Los valores estudiados en cada muestra fueron pH, pO_2 , pCO_2 , EB, Ht, Hb total, HbF por las técnicas ya antes mencionadas y la diferencia entre la Hb total y HbF.

En el cuadro 2 se presenta las medias aritméticas de las hemoglobinas y las desviaciones estandar de la HbF, así como los valores límites superior e inferior empleando dos desviaciones estandar, además se incluye el coeficiente de variación. En el cuadro 3 se presentan las medias aritméticas y las desviaciones estandar de los valores principales del equilibrio ácido-base.

CUADRO No 2

INVESTIGACION DE LA HbF

	Hb TOTAL *	METODO DE KLEIHAUER-BETKE		METODO DE SINGER-CHEBNOFF	
		HbF	$\bar{x} \pm 2$	HbF	$\bar{x} \pm 2$
A UCV	\bar{x} 16.32 g/dl	80.69 %	69.91-91.47 %	74.62 %	64.04-85.2 %
		6.6 %		7.08%	
	S 2.32	5.39		5.29	
V UCV	\bar{x} 16.32 g/dl	80.22%	69.98-90.46 %	74.63 %	60.75-88.51 %
		6.38%		9.02%	
	S 1.69	5.12		6.94	

* La Hb total se consideró como el 100% para efecto de los cálculos.

CUADRO No.3

VALORES PRINCIPALES DEL EQUILIBRIO ACIDO-BASICO

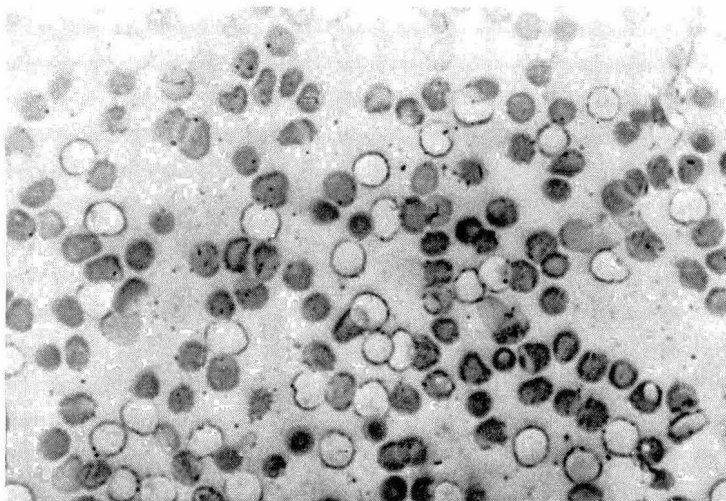
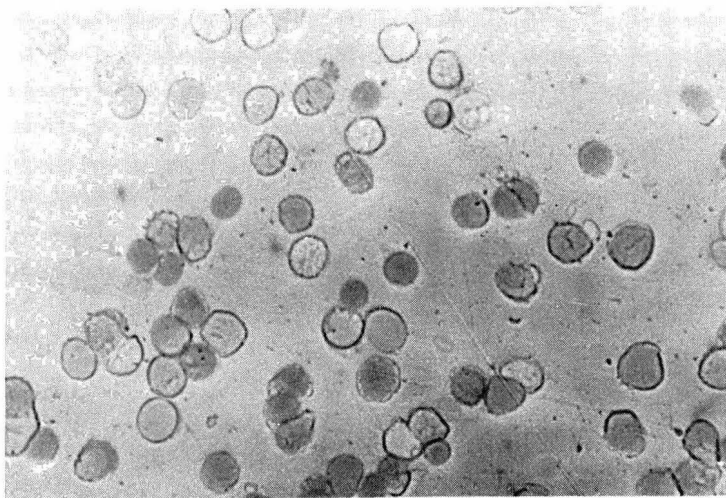
		pH	P O ₂	E B	P C O ₂	H t	H b
A U	̄	7.26	23.38	- 9.55	39.45	48.64	16.32
	S	0.09	4.96	3.25	6.41	6.11	2.32
V U	̄	7.30	29.03	-9.34	35.24	49.02	16.32
	S	0.06	5.75	3.77	6.25	5.26	1.69

CUADRO No 4

VALORES OBTENIDOS PARA LA HbF AL NACIMIENTO

AUTOR	METODO	VALORES OBTENIDOS
JONXIS (10) 1956	SINGER	63 - 88 %
ZIPURSKY (16) 1962	SINGER	65.1 - 79.7 %
SCHROEDER (31) 1963	SINGER	60 - 85 %
SCHROEDER (31) 1963	CROMATOGRAFIA	79 - 91 %
BHOYROO (13) 1970	SINGER	77.6 - 89.6 %
BHOYROO (13) 1970	KLEIHAUER	68.58 - 99.22 %

FOTOGRAFÍAS QUE DEMUESTRAN LA PRESENCIA DE
ERITROCITOS CONTENIENDO HbA Y HbF.



Los círculos representan los eritrocitos conteniendo HbA, las
circunferencias los que contienen la HbF.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Es necesario hacer notar que la técnica de Singer es cuantitativa, en la cual la HbA se debe desnaturalizar completamente. No sucede lo mismo con la técnica de Kleihauer que es semicuantitativa y pueden aparecer coloridos tanto los eritrocitos que se encuentran totalmente llenos de la HbF, como aquellos que la contienen sólo parcialmente; esto influye en que los datos de estimación de la misma sean más altos. Si bien ambas técnicas presentan utilidad, no es posible establecer una comparación estricta entre ellas puesto que tanto en su fundamento - como en su desarrollo son distintos. La primera se refiere a un patrón establecido en cambio la segunda aunque se ha tratado de establecer un patrón de colores de los eritrocitos (16) esto no deja de ser una simple apreciación personal cuya interpretación cuantitativa será poco exacta.

Varios autores han reportado una concentración de HbF al nacimiento, que oscila entre 60 y 90 % según se muestra en el cuadro No 4 , como puede observarse nuestros resultados concuerdan con los reportados en la literatura.

Existe una relación entre el equilibrio ácido-básico de la sangre del cordón umbilical y las condiciones de salud del niño

en el momento de nacer. Este hecho descrito por James y colaboradores en 1958 (25), está apoyado por los trabajos de otros investigadores (26, 27, 28) .

La sangre de la vena umbilical representa la función placentaria como órgano de transporte principalmente, en cambio la sangre de la arteria umbilical representa los mecanismos fetales.

Como promedio del pH en el presente estudio la arteria umbilical se obtuvo 7.26, en cambio en el adulto se considera 7.40 . Para la pO_2 el valor encontrado fué de 23.38, y en el adulto es superior de 70, para la pCO_2 se tiene 39.45, comparado con un valor de 30 a 36. El Ht y la Hb fuerón de: 48.64 y 16.32- g dl, respectivamente y es conocido que los valores normales para el adulto hombre son de 45 y 13-18 g dl, para la mujer 40 y 11-16 g dl.

CONCLUSIONES.

Como se puede observar hay marcadas diferencias entre los datos encontrados para el feto y los conocidos para el adulto, lo cual puede asociarse a varios factores:

- 1.- La diferencia de la HbF y la HbA.
- 2.- A las diferentes concentraciones de la HbF en el feto y en el adulto puesto que las de este último se

han considerado de 0-2 % de HbF (14).

- 3.- Factores genéticos en relación con la síntesis de las hemoglobinas.
- 4.- Factores respiratorios debido a que el individuo pasa de un medio acuoso a otro aéreo.
- 5.- Factores metabólicos, lo que se demuestra con la diferente concentración de iones H^+ reportados en términos de pH, el EB, la pO_2 , y la pCO_2 .

R E S U M E N

Se estudió la sangre de los vasos umbilicales de 34 fetos considerados como normales, en ellos se cuantificó el por ciento de HbF por las técnicas de Singer-Chernoff y Kleihauer-Betke, se les determinó se equilibrio ácido-básico; pH, EB, pCO₂, Hb, Ht. Se reportaron las medias aritméticas de los resultados obtenidos y su desviación estandar, de lo cual se concluye que el por ciento de HbF concuerda con los datos reportados en estudios anteriores; que la metodología empleada para la dosificación de la Hb es útil pero no equivalente y que los valores del equilibrio ácido-básico en el feto difieren de los conocidos para el adulto.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Wintrobe M. M.: Clinical Hematology. Ed. Lea and Febiger. Philadelphia 5a. Ed. pag, 34-36, 1961.
- 2.- Kolmer John A.: Métodos de Laboratorio. Ed Interamericana. México. pag, 5-26, 1960.
- 3.- Oski and Naiman.: Hematologic Problems in the Newborn. Ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia E.U. 2a Ed Vol. IV in The series: Major Problems in Clinical Pediatrics. Chapter Six. pag, 133-150, 1972.
- 4.- Allan C. Barnes.: Desarrollo Intrauterino. Ed. Salvat. España. pag, 38-128, 202-233, 1970.
- 5.- Guesoli J. M.: equilibrio Acido-Básico (fundamentos, fisiología, laboratorio). Ed. Gumersindo.F. Fernandez. Buenos - Aires., pag, 65-73, 1970.
- 6.- Leninger A.L.: Bioquímica. Ed. Omega. Barcelona., pag 60-63, 1972.
- 7.- Bauer D. J.: Clinical Laboratory Methods. Ed. The Mosby Co. Saint Louis 8a. Ed., pag 99-112, 1974.

- 8.- Newman D.R., y col.: Studies on the Diagnostic Significance of Hemoglobin F Levels. Mayo Cli. Proc. 48: 199-202, 1972.
- 9.- Honig G.R.: Inhibition on the sinthesis of Fetal Hemoglobin by an isoleucine Analogue. J. Clin. Invest., pag, 1778-1784, 1967.
- 10.- Jonxis J. H. P.: The Development of Hemoglobin. Pediatrics Clin of Dorth Amerc. 12: 1965.
- 11.- Mauer H. S., Richard E.: Dependence of the Oxygen Affinity of Blood on the Presence of Foetal or Adult Haemoglobin. Nature. 22: 338-390, 1970.
- 12.- Orzalesi M. Marcello., and William Hay. B.A.: The Regulation of Oxygen Affinity of Fetal Blood. In Vitro Experiments - and Results in Normal Infants. Pediatrics. 48: 557-564, 1971.
- 13.- Bhoyro S.K. and D'Souza S.W.: Fetal Haemoglobin in Cord - Blood as estimated by two different techniques. The Jour. Gyn of Brtish Comm Wealth. 77: 228-248, 1970.
- 14.- Singer K., Chernoff A.I., Singer L.: Studies of Abnormal Hemoglobins Their demonsttrion in sickle cell anemia and other Hematologic disorders by means of alkali denaturation. Blood. 6, 1951.

- 15.- Kleihauer E., Braub H., and Betke K.: Demonstration von Fetalem Hamoglobin in den erythrocyten eines blustausstrich. Lin Wehnschr. 35, 1957.
- 16.- Zipursky A. and Neelands J.P, Pollock., Chown B.: The Distribution of Fetal Hemoglobin in the blood of normal Children an adults. Pediatrics. 30, 1962.
- 17.- Andersen O.: A new Acid Base Nomogram an Inproves method For the calculation of the relevan blood acid-base data. Scand. J.Clin. Lab Invest. 12:177, 1969.
- 18.- Andersen O.: A graphic representation of changes in the acid base status. Scand. Clin Lab Invest. 12, 1969.
- 19.- Siggaard Andersen. O.: Blood acid base ligment nomogram alcalas for pH, pCO_2 , CO_2 . Scand J Clin Lab Invest. 15, 1963.
- 20.- Dominguez T. José Luis., Gutierrez Hidalgo E., Baltazar E.Antonio.: Demostración de eritrocitos fetales en la circulación materna. Método de la elución ácida. Actas del primer congreso Latinoamericano de Bioquímica Clínica aplicada. 12: 250-254, 1968.
- 21.- Samuel I Rapaport.: Introduction to Hematology. Ed. Harper and Row. N.Y. San Francisco, London. Chapter five., pag 60-80, 1971.

- 22.- Severi Haus . J. W., and Bradley A. F.: Electrodes for pO_2 and pCO_2 determinations. J. App Physiol. 1958.
- 23.- I.Davidsohn J.B., Henry Tood-Sanford.: Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. Ed. Salvat Editores S.A. 5a Ed. pag 122-129, 1973.
- 24.- Astrup P., Jørgensen K., Siggaard Andersen O., and Engel K.: The acid-base metabolism a new approach. Lancet, 1960.
- 25.- Weisbrot I. M., L. S. James., C. E. Prince., D. A.. Holaday and V. Apgar.: Acid Base homeostasis of the new born - infant during the first 24 hours of life. J. Pediatrics. 52, 395, 1958.
- 26.- James L. S., Weisbrot I. M., Prince E. E., Holaday D.A. Apgar V.: The acid-base status of human infants in relation to birth asphyxia an onset of respiration. J. Pediat. 52: 379-394, 1958.
- 27.- Thiery M., Drom R., and col.: The biochemical normality of the human fetus at birth. Biol Neonate. 18: 203-211, 1971.
- 28.- Kubli W. Fred.: Influence of labor on fetal acid-base balance Clinical Obstet, and Gynec. 11: 168-191, 1968.
- 29.- Tietz Norbert W.: Química Moderna. Ed. Interamericana.

México. pag 654-661, 1972.

- 30.- Donough O'Brien., Frank A. Ibbott., Davis O. Rodgerson.
Laboratory Manual of pediatric Micro-Biochemical Techniques,
4a edition. Hoeber Medical Division. Harper and Row
publisher. N.Y. pag 187, 1968.
- 31.- Schroeder W. A. et al .: A Comparaison of the precentage
of fetal hemoglobin in human cord blood determined by
Chromatography and by alkali denaturation. Blood. 22:
2554, 1963.
- 32.- Issac M. Libermann., Héctor García ., Violeta Curbello.:
Determination of Oxigen saturation in the Dog's Blood.
Use of OSM I and of Siggaard-Andersen human nomogram.
Bull. Physio-path resp. 6: 847-856, 1970.
- 33.- Isaac M. Libermann., Héctor García.: Determination of
hemoglobin oxigen saturation in blood of Human Fetus at
term.: American Journal of Obstetrics and Gynecology. 106:
128-133, 1970.



QUÍMICA