



Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Química

TRIFOSFATO DE ADENOSINA Y OTROS METABOLITOS
EN EL BINOMIO FETO-MATERNO AL
INICIO DEL PARTO.

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :

MARTHA DARINA LOPEZ LEDESMA



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.

LAB. TESIS 1978
ABQ. M.T. ~~248~~ 247 255
FECHA _____
PROF. _____



JURADO ASIGNADO ORIGINALMENTE SEGUN EL TEMA:

PRESIDENTE	Q.F.B.	DEA CORONADO PERDONO
VOCAL	M. en C.	ESTHER GUTIERREZ HIDALGO
SECRETARIO	Q.F.B.	GPE. LETICIA CARRASCO RIVERA
1er. SUPLENTE	Q.F.B.	LUZ MA. HERNANDEZ BELTRAN
2o SUPLENTE	Dr.	JOSE LUIS DOMINGUEZ TORIX

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL PRESENTE TRABAJO DE TESIS:

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

SUSTENTANTE:

MARTHA DARINA LOPEZ LEDESMA

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. ESTHER GUTIERREZ HIDALGO

A LA MAESTRA ESTHER GUTIERREZ HIDALGO
CON CARIÑO, ADMIRACION Y AGRADECIMIENTO
POR LOS CONSEJOS Y EL APOYO QUE ME HA
BRINDADO DURANTE MI VIDA PROFESIONAL.

A LA MEMORIA DEL MAESTRO RAMON GUEVA
RA ESTRADA.

A MIS PADRES CON AMOR, RESPETO
Y GRATITUD POR SU APOYO, ORIEN
TACION Y ESTIMULO.

A MIS HERMANOS Y FAMILIARES.

CON PROFUNDO CARIÑO AL ING. ROBERTO VELAZCO.

A TODOS LOS QUE ME AYUDARON
DURANTE MI CARRERA.

I N D I C E

	Pág.
INTRODUCCION.....	1
GENERALIDADES.....	4
MATERIAL Y METODOS.....	14
RESULTADOS.....	29
DISCUSION.....	32
RESUMEN Y CONCLUSIONES.....	34
BIBLIOGRAFIA.....	35

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

El trifosfato de adenosina ha sido considerado como el principal transportador y donador de energía que el hombre necesita para efectuar cualquier trabajo físico o procesos metabólicos, por lo que se piensa que este compuesto desempeña un papel muy importante en los cambios respiratorios y metabólicos que ocurren a la madre y al feto en el momento crítico del trabajo de parto fisiológico y nacimiento. Por lo que cualquier transtorno que origine un desbalance en el metabolismo energético, durante el periodo de parto y nacimiento ocasionará una perturbación de la homeostasis fetal; en tal caso el feto desarrollará una serie de mecanismos defensivos para proteger sus órganos más importantes y prolongar su supervivencia bajo circunstancias adversas, pero cuando el sufrimiento fetal es agudo y prolongado dichos mecanismos resultan insuficientes para evitar los daños irreversibles que pueden originarse.

Por tal motivo se han empezado a realizar algunas investigaciones para tratar de elucidar el papel que desempeña el trifosfato de adenosina durante el periodo de parto y nacimiento, con el objetivo principal de poder brindar ayuda al feto que presente sufrimiento fetal, para evitar en cuanto sea posible los daños que se originan durante este periodo.

Sofrova en 1968 (17) y Horská en 1969 (18) - en Praga, determinaron los niveles del trifosfato de adenosina (ATP) en sangre venosa materna y sangre de los vasos del cordón umbilical durante el periodo de parto fisiológico y el nacimiento.

Los resultados que estos autores obtuvieron, mostraron que los niveles de ATP maternos no presentan ningún cambio significativo durante todo el periodo de parto y nacimiento. En el cordón umbilical los niveles de ATP fueron más altos en la vena que en la arteria.

Los estudios efectuados en fetos con hipoxia fetal intrauterina realizados por Horská en 1969 (17) y Bacigalupo en 1972 (19), mostraron que bajo estas condiciones los niveles de ATP en los vasos del cordón umbilical, son mas altos en la arteria que en la vena umbilical; lo que pone en evidencia que durante este periodo el metabolismo energético fetal sufre alteraciones. Como es sabido durante la hipoxia fetal intrauterina el aporte de oxígeno al feto se encuentra disminuido porque durante el parto pueden ocurrir varias eventualidades: entre estas son frecuentes las circulares de cordón que limitan el paso de sangre materna al producto, las contracciones intrauterinas anormalmente prolongadas y frecuentes que ocasionan una compresión de los vasos maternos que irrigan a la placenta (4) reduciendo gradualmente el aporte de sangre materna al feto y dando lugar a una desviación del metabolismo de los glúcidos hacia la anaerobiosis, aumento de ácido láctico, retención de CO_2 y probablemente una disminución de energía que el feto trata de compensar mediante una mayor utilización de glucosa, sin embargo aún cuando el feto cuenta con una reserva de glucógeno que le permitiría afrontar este problema, si el sufrimiento fetal se prolonga, dichas reservas pueden disminuir a tal grado que se desencadenen daños irreparables en la economía fetal ya que como se cito anteriormente, el aporte de sangre materna está interrumpido y no puede proporcionarle glucosa al feto.

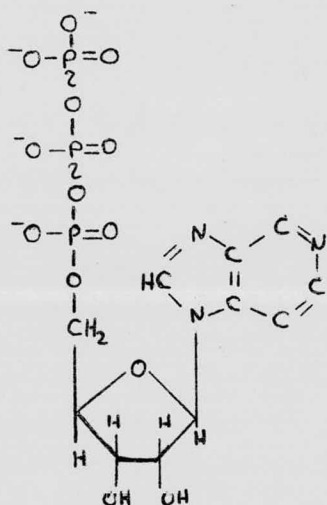
Debido a esto ha sido nuestra inquietud el -
tratar de conocer los recursos naturales energéticos
que ambos poseen determinando los valores de ATP, -
glucosa, hemoglobina y hematocrito en la sangre arte-
rial materna y la capilar fetal en el periodo del -
inicio de parto; con el propósito de que se pueda -
establecer posteriormente alguna relación útil entre
los estados fetales que presenten algún problema y -
los normales.

En ninguno de los estudios encontrados sobre
el metabolismo energético fetal, se ha informado de
las variaciones que pueden ocurrir durante el parto-
fisiológico y mucho menos en los casos de sufrimien-
to fetal, esto probablemente se deba a la dificultad
que ha existido en la toma de muestra aún cuando -
Saling (5) introdujo un método adecuado, seguro y -
confiable para facilitar la toma de las muestras; -
además es posible que no se cuente con un microméto-
do adecuado que permita evaluar dichos cambios.

GENERALIDADES

Trifosfato de Adenosina (ATP).

Fiske y Subbarow en 1929 aislaron por vez primera - el trifosfato de adenosina de los extractos ácidos - de músculo, más tarde Todd y col. en 1948 confirma-- ron su estructura al obtenerlo por medio de síntesis química (1).



En la célula el ATP se encuentra en el citoplasma soluble o citosol, dentro de organelos como - las mitocondrias y el núcleo. Generalmente está en - forma de complejo MgATP debido a que los grupos piro - fosfato tienen gran afinidad para enlazar cationes - divalentes (1).

Al iniciarse el estudio de los sistemas bio - lógicos, se observó que las reacciones de oxidación - en el metabolismo intermediario se acompañan de la - liberación de energía térmica, la cual no puede uti -

lizarse directamente para impulsar los procesos vitales que la requieren, por consiguiente se pensó en la existencia de un intermediario energético, pero no fué hasta 1941 cuando Lipmann propuso al ATP como el principal medio de transferencia de energía química celular (1,2).

La importancia del ATP en el metabolismo intermediario se hizo evidente con el descubrimiento de los detalles químicos y de los mecanismos mediante los cuales, las moléculas combustibles son degradadas y su energía se conserva en forma de enlace de alta energía en el ATP durante el proceso de glucólisis.

La glucólisis que significa lisis de la glucosa, se efectúa en condiciones anaerobias y es catalizada por las acciones consecutivas de un grupo de 11 enzimas, que se localizan en la porción soluble del citoplasma celular.

La glucólisis se ha dividido en dos etapas; la primera de ellas es un proceso preparatorio en donde la glucosa se fosforila primero a expensas del ATP y después se escinde en un azúcar de tres átomos de carbono, el gliceraldehido-3-fosfato, el cual en la segunda etapa es convertido en ácido láctico como producto final de este proceso. En esta segunda etapa tienen efecto procesos de oxidoreducción y mecanismos de conservación de la energía, en donde el ADP se fosforila y es transformado en ATP, lo que se ilustra en el esquema de la figura No. 1 en donde se presenta la secuencia de reacciones enzimáticas que tienen lugar en el proceso global de la glucólisis, allí se observa que cuando una molécula de glucosa es convertida en dos de lactato, se obtiene una-

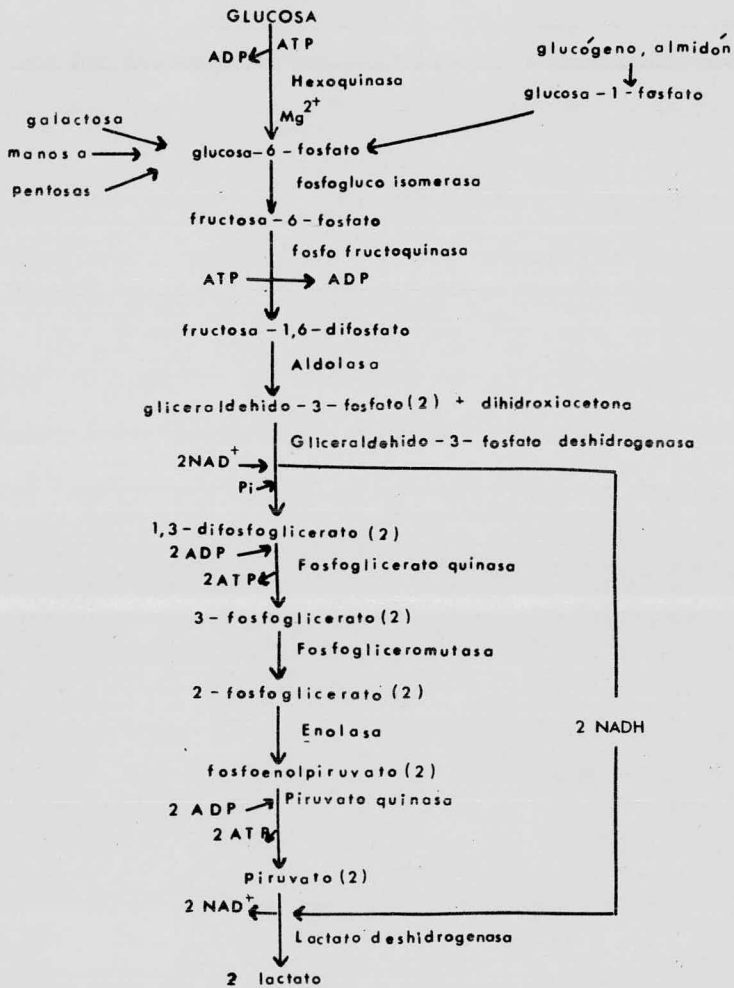


Fig. No. 1 Esquema de la secuencia de reacciones enzimáticas que toman lugar durante la glucólisis.

Fuente: Leninger A.L.: Bioquímica. Ed. Omega. Barcelona. 334, 1972.

ganancia neta de dos moléculas de ATP.

También se anotan las fuentes productoras - de glucosa que interaccionan en esta vía, ellas son: glucógeno, almidón, pentosas y otras hexosas diferentes de la glucosa.

En el transcurso de las investigaciones sobre el metabolismo de los carbohidratos, se llegó a comprobar que durante la contracción muscular en un medio anaerobio el glucógeno desaparecía y el piruvato y lactato aparecían como productos finales principales; sin embargo, en condiciones aeróbicas el lactato no se acumulaba y el piruvato era oxidado ulteriormente hasta CO_2 y agua (2).

Distintos autores al observar este fenómeno efectuaron investigaciones que sirvieron de antecedentes para que Krebs realizara el estudio de las interrelaciones del metabolismo oxidativo de diversos ácidos orgánicos, empleando como material experimental una suspensión de papilla de músculo pectoral - de paloma que posee un ritmo respiratorio elevado - (1); basándose en los resultados de su trabajo y en sus atinados razonamientos, Krebs postuló en 1937 el ciclo del ácido cítrico como la principal vía de oxidación de los carbohidratos en el músculo.

El ciclo del ácido cítrico o ciclo del ácido tricarbóxico se presenta en la figura No. 2; este proceso tiene lugar en los mitocondrios y consiste - en una serie de reacciones cíclicas.

En 1948 Kennedy y Lehninger descubrieron que cuando se separan los mitocondrios del homogenizado de hígado de rata por medio de centrifugación dife-

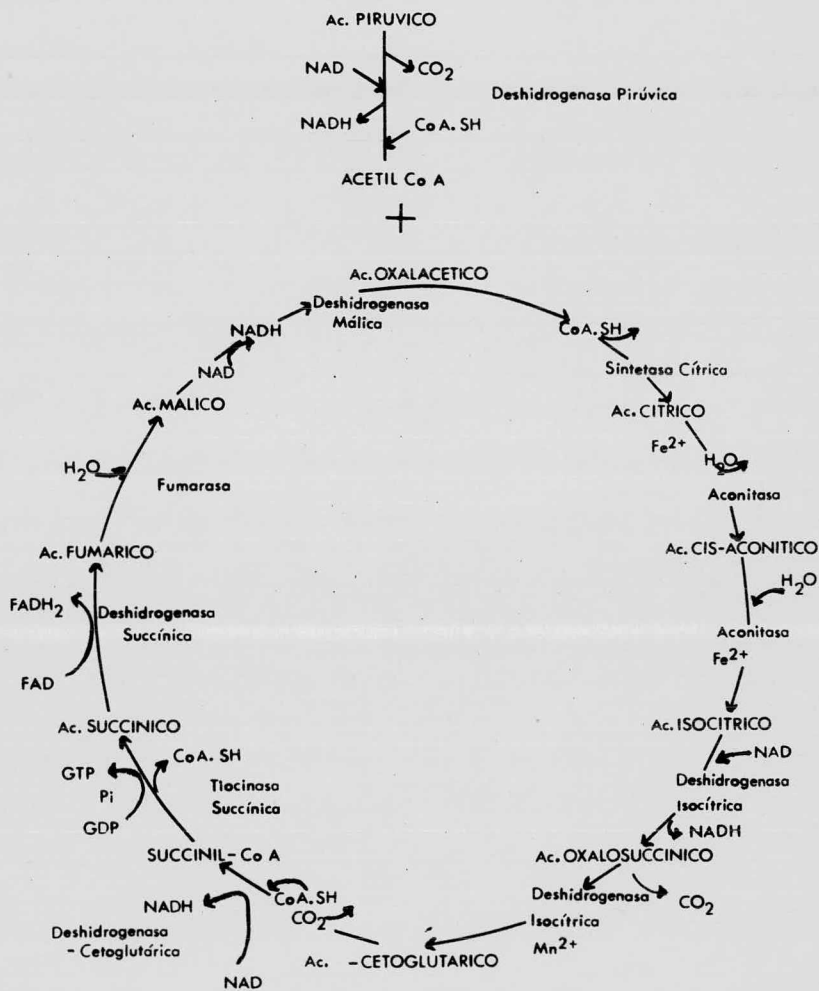


Fig. No. 2 Esquema de la serie de reacciones que se efectúan en el ciclo del ácido cítrico.

Fuente: Harper H.A.: Manual de Química Fisiológica. Ed. El manual moderno S.A. Tercera Edición. México. 271, 1971.

rencial y se suspenden en un medio amortiguador con fosfato y nucleótidos de adenina con iones magnesio, se lleva a cabo la oxidación del piruvato y de todos los intermediarios del ciclo del ácido tricarbóxico a expensas del oxígeno molecular; por lo anterior llegaron a la conclusión de que el mitocondrio debía contener no sólo todos los enzimas necesarios para llevar a cabo el ciclo del ácido tricarbóxico, sino también los requeridos para el transporte de hidrogeniones hasta el oxígeno molecular y formar agua. Estos transportadores integrantes de la cadena respiratoria fueron descubiertos mediante los trabajos efectuados por Warburg, Keilin, Green, Okunuki y otros (1), también su secuencia pudo ser establecida y es presentada en la figura No. 3.

Se pudo observar que durante la transferencia de electrones desde el NADH hasta el oxígeno molecular se producía una variación de energía libre muy grande y se llegó a pensar que ésta podría ser utilizada en la síntesis de ATP a partir del ADP y fosfato si se disponía de un mecanismo de acoplamiento; la existencia de este mecanismo pudo ponerse en evidencia con las investigaciones realizadas por Kalkar en Dinamarca y Belister en la Unión Soviética, quienes observaron que durante la oxidación de diversos intermediarios del ciclo del ácido cítrico por suspensión de tejido muscular, de riñón o de hígado, recientemente triturado, había una disminución del fosfato inorgánico presente en el medio y que se podía recuperar en forma de diversos fosfatos orgánicos; pero en condiciones anaerobias o cuando la respiración se encuentra envenenada por cianuros, tales fosforilaciones no tienen lugar, por lo tanto se llegó a la conclusión de que la fosforilación del ADP -

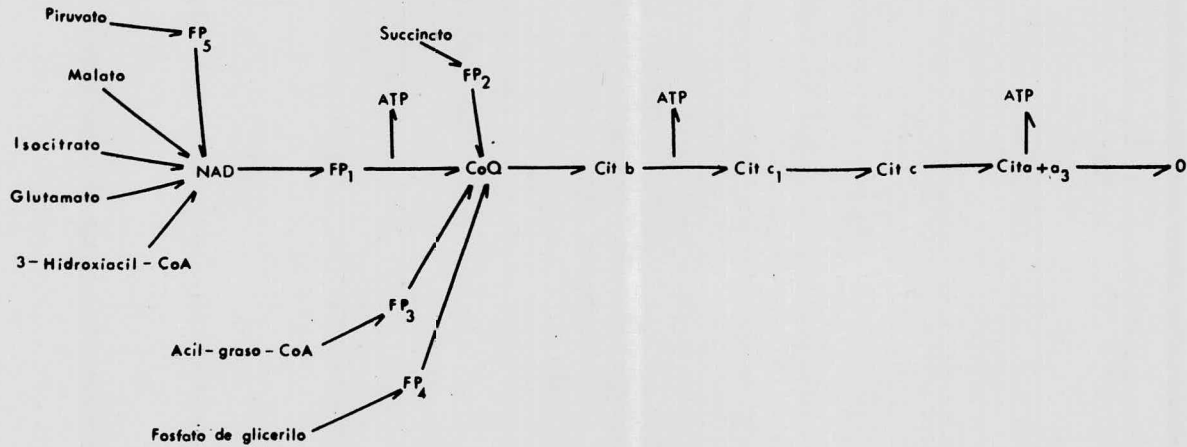


Fig. No. 3 Esquema de la cadena respiratoria y los sitios probables de fosforilación oxidativa.

Fuente: Leninger A.L.: Bioquímica. Ed. Omega. Barcelona., 400. 1972.

se halla acoplada a la respiración y que mediante este mecanismo la energía liberada durante el transporte de electrones es recuperada en forma de ATP. Posteriormente Lehninger, Chance y otros investigadores en forma experimental y mediante cálculos termodinámicos lograron establecer las localizaciones aproximadas de los tres lugares de la cadena respiratoria- (Fig. No. 3) donde ocurre el proceso de fosforilación oxidativa.

En base a lo antes revisado, se puede concluir que cada célula es un almacén de ATP, el cual es la molécula clave productora de energía necesaria para que el organismo pueda realizar todo tipo de trabajo que entendido desde el punto de vista físico se define como transferencia de energía.

En condiciones de salud, existe un equilibrio entre la producción y el gasto de energía que tiene el organismo cuando realiza funciones como el metabolismo intermediario, absorción activa, secreción activa, contracción muscular, actividad nerviosa, etc. (4); si este equilibrio sufre alguna alteración se conduce paso a paso a la patología.

Los cambios fisiológicos y metabólicos que ocurren a la madre y el feto durante el proceso de la gestación han sido estudiados por varios investigadores, se ha podido establecer que para tener un buen desarrollo y crecimiento fetal es necesario mantener su homeostasis, ésto se logra por medio del intercambio que se efectúa entre la madre y el feto a través de la placenta, la cual actúa como órgano de la nutrición y respiración fetal (3,4).

El intercambio de gases respiratorios que se lleva a cabo entre la madre y el feto es de gran importancia ya que el aporte de oxígeno de la madre al feto a través de la vena umbilical que llega a éste desde la placenta, le permite desarrollar un metabolismo celular aerobio, que tiene por ventaja el poder oxidar completamente a la glucosa hasta CO_2 y agua, para obtener una cantidad de energía en forma de ATP mayor que la que obtendría en condiciones anaerobias, facilitando así el desarrollo de las diferentes actividades fetales.

A través del tiempo varios autores han enfocado su interés hacia la elucidación del papel que desempeña el ATP en la sangre materna y fetal durante el parto y nacimiento, estas investigaciones han tenido grandes tropiezos ya que aún cuando desde 1914 se sospechaba la presencia del ATP y varios nucleótidos en la sangre, su identificación fué posible hasta los años cincuenta (15), posteriormente su procedencia se puso en evidencia con el trabajo experimental de Bishop y col. (16) quienes estudiaron los extractos ácidos de la sangre total y del plasma en una población de hombres y mujeres normales; en ambos extractos se efectuó la separación de los nucleótidos sanguíneos por medio de cromatografía en columna y su identificación se realizó por cromatografía en papel, los resultados que se obtuvieron mostraron que los nucleótidos ATP, ADP, AMP, y GTP solo aparecen en los extractos ácidos de la sangre total, y no así en los extractos ácidos del plasma, por lo que se puede concluir que los nucleótidos presentes en la sangre total provienen del eritrocito y que en condiciones normales no aparecen en el plasma. Después de este descubrimiento y gracias

al avance paulatino de la tecnología se ha podido - iniciar el estudio del comportamiento y papel que de se pe ña el ATP en la sangre materna y fetal en con di ci o nes fisiológicas y patológicas.

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

En el presente estudio se analizó la sangre arterial de 20 mujeres gestantes en trabajo de parto regularizado con cuello uterino semiborrado y con 2 a 4 cm de dilatación, al mismo tiempo se analizó también la sangre capilar de 15 de sus fetos.

La sangre arterial materna se obtuvo por punción de la arteria radial empleando jeringas heparinizadas.

La sangre capilar fetal se tomó del cuero cabelludo del producto mediante la técnica de Saling (5).

En todas las muestras se efectuaron mediciones del contenido de hemoglobina (Hb), hematocrito (Ht), trifosfato de adenosina (ATP) y glucosa.

Para la determinación de Hb se utilizó la técnica de la cianometá descrita por Drabkin (6,7).- El Ht se obtuvo por el método de Wintrobe modificado para el microhematocrito (8,9).

La cuantificación del contenido en ATP fue llevada a cabo por el método enzimático de Bücher (10) y su modificación para la microtécnica (11).

La glucosa fue determinada por el método de Hultman modificado por Gutiérrez-Hidalgo (6,14).

La descripción de cada una de las técnicas empleadas en el presente trabajo se da a continuación:

Determinación de Hemoglobina por la técnica de Drabkin.

Fundamento.- Los eritrocitos al hemolizarse liberan hemoglobina, ésta por medio del ferricianuro es oxidada a metahemoglobina; la metahemoglobina reacciona con el cianuro de potasio y forma la ciano metahemoglobina, cuya coloración puede cuantificarse fotocolorimétricamente.

Material biológico: Sangre heparinizada.

Reactivos:

1.- Diluyente de Drabkin.

Ferricianuro de potasio.	200	mg
Cianuro de potasio.	50	mg
Bicarbonato de sodio.	1	g
Agua destilada c.b.p.	1000	ml

2.- Acuglobin.

Sol. de cianometahemoglobina.	60	mg/dl
-------------------------------	----	-------

Procedimiento:

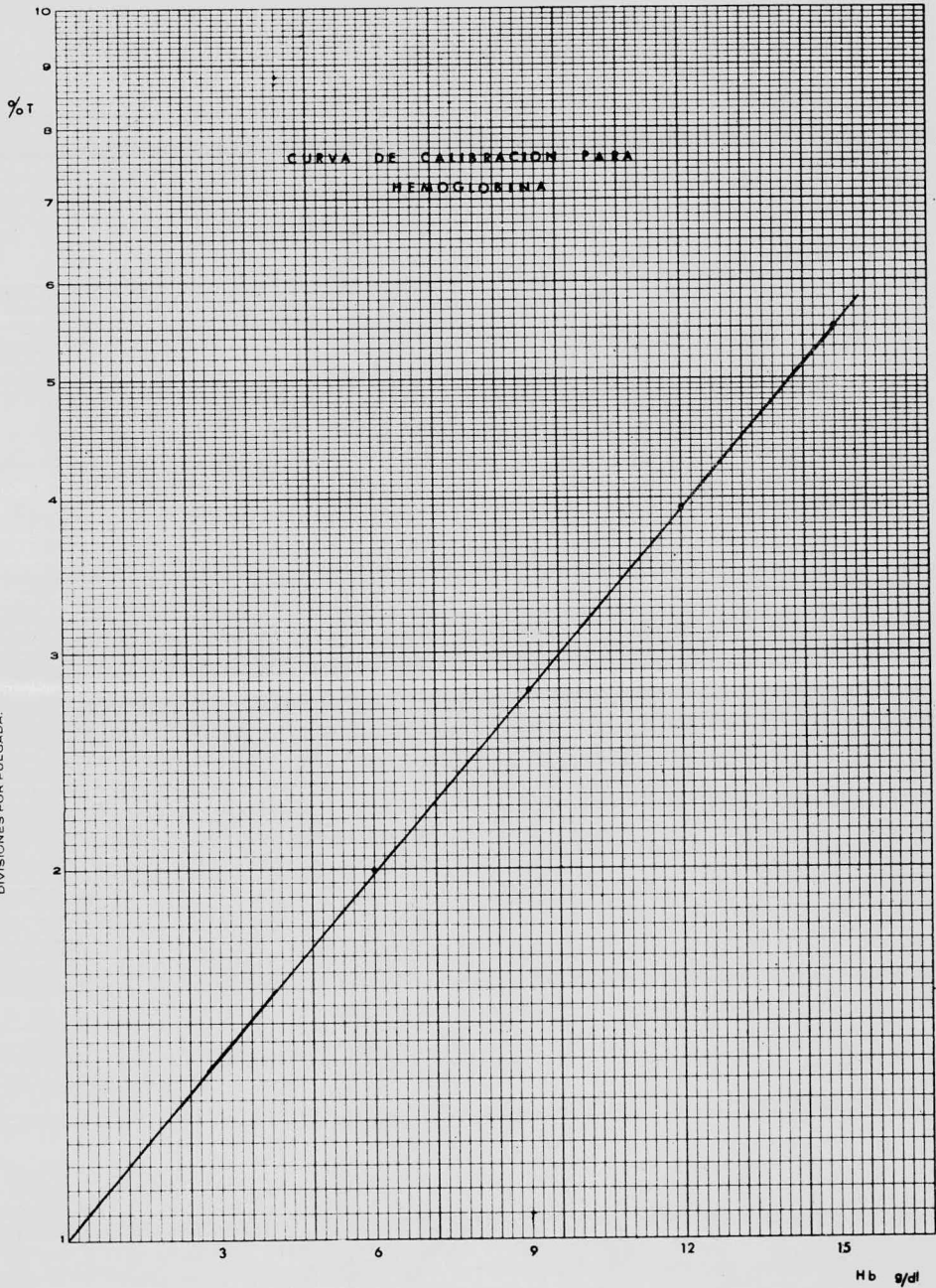
	PROBLEMA (ml)	BLANCO (ml)
1.- Reactivo de Drabkin.	5.00	5.00
2.- Sangre heparinizada.	0.02	----

- 3.- Se mezcla perfectamente por agitación y se deja reposar durante 10 minutos para dar lugar tanto a la hemólisis de los eritrocitos como a la formación de la cianometahemoglobina.
- 4.- Se lee el por ciento de transmitancia a una longitud de onda de 540 nm. El control de esta técnica se llevó a cabo utilizando Acuglobin como solución patrón (7) de la manera siguiente:

Tubo No.	Solución de Acúglobin. (ml)	Diluyente de Drabkin. (ml)	Concentración de Hb g/dl. (ml)
1	0.0	5.0	0.0
2	2.0	3.0	6.0
3	3.0	2.0	9.0
4	4.0	1.0	12.0
5	5.0	0.0	15.0

Se mezclan perfectamente los reactivos y se efectúa la lectura de por ciento de transmitancia a una longitud de onda de 540 nm.

Con los datos obtenidos se trazó una curva de calibración en papel semilogarítmico (gráfica No. 1), en ésta se extrapolaron las lecturas del por ciento de transmitancia de los problemas para conocer la concentración de hemoglobina en g/dl.



SEMI-LOGARITMICO, CICLO X 12 DIVISIONES POR PULGADA.

Hb g/dl

Determinación del microhematocrito.

Fundamento.- La sangre total con anticoagulante se centrifuga a 12 000 r.p.m. durante 5 minutos, con objeto de separar los glóbulos rojos del plasma, para medir el volumen eritrocítico y expresarlo en por ciento.

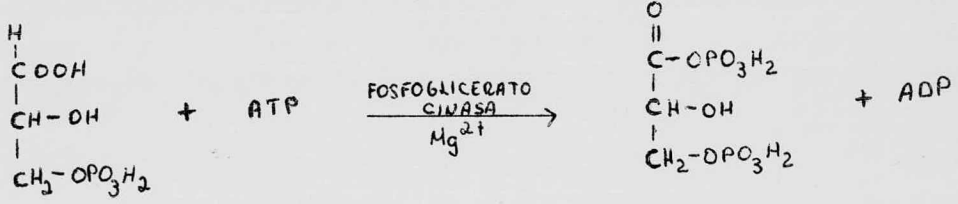
Material biológico: Sangre heparinizada.

Procedimiento:

- 1.- Se mezcla perfectamente la sangre con el anticoagulante (en este caso heparina) y se llena un tubo capilar de 75 X 1.5 mm hasta las tres cuartas partes de su volumen.
- 2.- Se sella el extremo del capilar con plastilina.
- 3.- Se coloca el capilar en las ranuras del cabezal de una centrífuga para microhematocrito.
- 4.- Se centrifuga a 12 000 r.p.m. durante 5 minutos.
- 5.- Se lee el volumen de eritrocitos utilizando un disco lector para microhematocrito, o se mide con una regla la longitud del volumen de la sangre total en el capilar y la alcanzada por el volumen eritrocítico; aplicando después una regla de tres simple se obtiene el resultado, que se expresa en volumen por ciento.

Cuantificación del trifosfato de adenosina en sangre total por la técnica de Bücher.

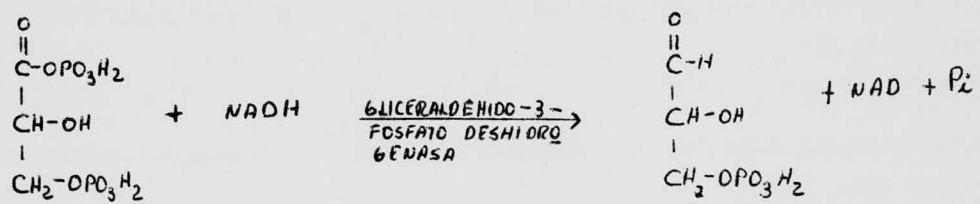
Fundamento.- En este procedimiento se propicia una - secuencia de reacciones enzimáticas: el ATP de la - muestra cede un ión fosfato al ac. 3-fosfoglicérico- para convertirlo en ac. 1, 3-difosfoglicérico; la - reacción es catalizada por el fosfoglicerato cinasa, activada por iones magnesio.



AC. 3-FOSFOGLICERICO

AC. 1,3-DIFOSFOGLICERICO

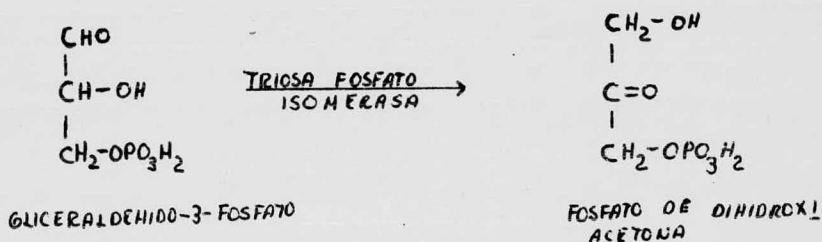
El ac. 1,3-difosfoglicérico pierde un grupo-fosfato y sufre una reducción por la acción del coen- zima NADH lo que da lugar a la formación del glice- -raldehido-3-fosfato y a la oxidación de una molécula de NADH. La reacción es catalizada por el glicer- -aldehido-3-fosfato deshidrogenasa.



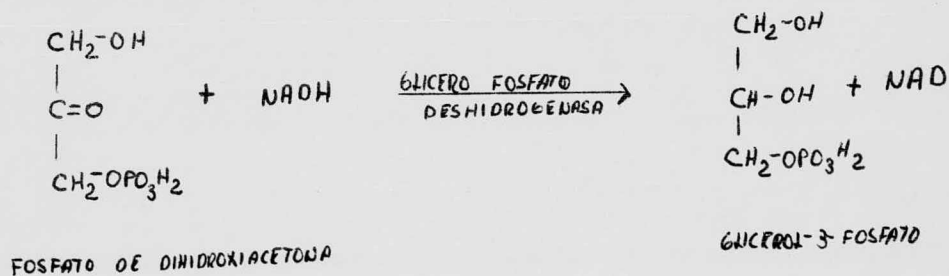
AC. 1,3-DIFOSFOGLICERICO

GLICERALDEHIDO-3-FOSFATO

El gliceraldehído-3-fosfato por la acción catalítica del triosa fosfato isomerasas sufre una interconversión de su grupo aldehídico por uno cetónico para obtener el isómero llamado fosfato de dihidroxiacetona.



El fosfato de dihidroxiacetona es reducido mediante el NADH en presencia de glicerofosfato deshidrogenasa, lo que da lugar a la formación del glicerol-3-fosfato que es el producto final de la serie de reacciones secuenciales.



Durante el proceso se oxidan dos moléculas de NADH transformándose en NAD que representa la forma oxidada del coenzima y no muestra absorción lumi-

nosa a una longitud de onda de 340 nm. En base a és to, si se hacen mediciones de la densidad óptica - antes y después de que ocurran las oxidaciones del - coenzima, se observa una disminución de la D.O.; és- te cambio de absorbancia ocasionado por la oxidación de dos moléculas de NADH se toma como base para cal- cular en forma indirecta la concentración de ATP pre- sente en la muestra.

Material biológico: Sangre heparinizada.

Reactivos:

1.- Amortiguador/ac. 3-fosfoglicérico.

- | | |
|------------------------------------|---------------|
| a) Amortiguador de trietanolamina. | 0.5 M; pH 7.6 |
| b) Sulfato de magnesio. | 4.0 mM |
| c) Ac. 3-fosfoglicérico. | 6.0 mM |

2.- Coenzima NADH 2.5 mM

3.- Suspensión enzimática:

- | | |
|--|----------|
| a) Gliceraldehido-3-fosfato deshidro <u>g</u> enasa. | 300 U/ml |
| b) 3-glicerato cinasa. | 500 U/ml |
| c) Glicerol fosfato deshidrogenasa. | 40 U/ml |
| d) Triosa fosfato isomerasa. | 300 U/ml |

4.- Acido perclórico 0.6 N

Procedimiento:

La muestra de sangre total heparinizada inmediatamente despues de la toma se desproteíniza con -ácido perclórico 0.6 N frio para detener la activi--dad enzimática y precipitar las proteínas.

Posteriormente se centrifuga y se separa el-sobrenadante, al cual se le adiciona trietanolamina-0.5 M; pH 7.6 como amortiguador para evitar que cam-bios bruscos de pH desnaturalicen el sistema enzimá-tico con el que se va a trabajar.

En el procedimiento descrito por el autor - mencionado se requiere un volumen de muestra de 1.0- ml; para el presente trabajo fué necesario emplear - volúmenes de muestra mucho más pequeños, por lo que - se hizo una modificación a la técnica original (11)- con la que fué posible utilizar solamente 20 microlitros de sangre problema.

TECNICA		
	ORIGINAL (ml)	MODIFICADA (ml)

I DESPROTEINIZACION.

- | | | |
|--|-----|------|
| a) Acido perclórico 0.6 N
frío | 4.0 | 0.08 |
| b) Muestra | 1.0 | 0.02 |
| c) Se mezcla bien y se deja reposar 10 minutos a -
una temperatura de 20-25 °C. | | |
| d) Centrifugar a 3000 r.p.m. durante 10 minutos. | | |
| e) Separar el sobrenadante. | | |

TECNICA

	ORIGINAL (ml)	MODIFICADA (ml)
II CUANTIFICACION DE ATP.		
a) Amortiguador/3-fosfoglicerato.	2.0	0.20
b) Coenzima NADH 2.5 mM	0.20	0.02
c) Sobrenadante.	0.20	0.02
d) Mezclar bien y leer la densidad óptica inicial E_1 a 340 nm.		
e) Suspensión enzimática	0.02	0.002
f) Mezclar y dejar reposar 10 minutos, leer la densidad óptica final E_2 a 340 nm.		

Cálculos:

La fórmula empleada para calcular la concentración de ATP en sangre es la siguiente (12,13).

$$C = \frac{(E_1 - E_2) V. P.M.}{d. E. v}$$

en donde:

C = Concentración del ATP en mg/dl

E_1 = Densidad óptica inicial.

E_2 = Densidad óptica final.

V = Volumen total de la solución en la celda.

P.M.= Peso molecular del ATP.

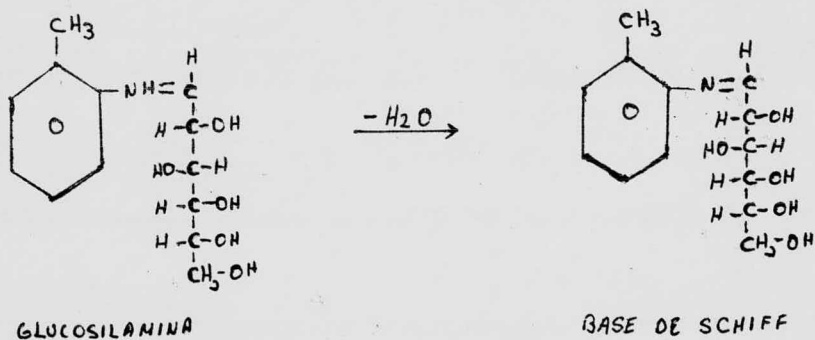
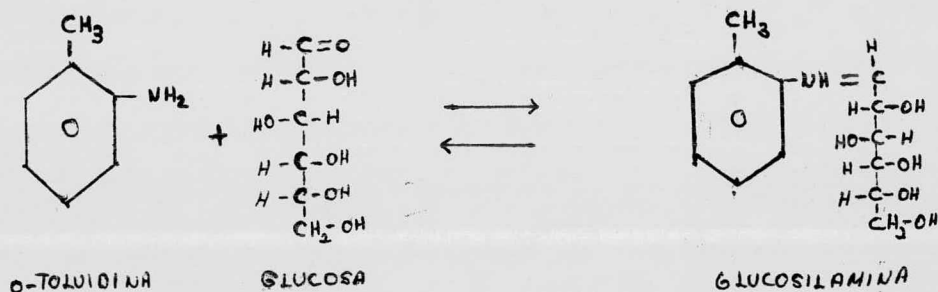
d = 1 cm de paso de luz a través de la celda.

E = Coeficiente de extinción del coenzima NADH a 340 nm.

v = Volumen de la muestra.

Determinación de glucosa.

Fundamento.- La o-Toluidina es una amina aromática primaria que cuando reacciona en solución acética y en caliente con la glucosa origina un compuesto estable de color verde cuya intensidad es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra.



Material biológico: Sangre heparinizada.

Reactivos:

1.- Solución de o-Toluidina.

Tiourea.	1.5	g
Acido acético glacial.	940.0	ml
O-Toluidina.	60.0	ml

2.- Solución patrón de glucosa 1 mg/ml

Glucosa anhidra	100.0	mg
Sol. ácido benzóico 0.25 %		
c.b.p.	100.0	ml

Procedimiento:

Se disponen tres tubos de ensaye y en cada uno se colocan los reactivos que a continuación se indican:

	PROBLEMA (ml)	ESTANDAR (ml)	BLANCO (ml)
1.- Solución de o-Toluidina.	1.50	1.50	1.50
2.- Plasma.	0.02	----	----
3.- Sol. patrón de glucosa 1 mg/ml.	----	0.02	----
4.- Se agita perfectamente y se tapan los tubos.			
5.- Se colocan en baño maría a ebullición durante 10 minutos y después se enfrían al chorro de agua.			
6.- Las lecturas se efectuan a una longitud de onda de 630 nm.			

Cálculos:

La concentración del estándar y su por ciento de transmitancia se relacionaron con el por ciento de transmitancia del problema mediante el uso de un disco calculador * para determinar la concentración de glucosa en mg/dl en cada uno de los problemas.

Nota: * El disco calculador consta de dos escalas - relacionadas en forma logarítmica; en una de ellas se encuentran las unidades de concentración y en la otra el por ciento de transmitancia.

R E S U L T A D O S O B T E N I D O S

Se analizó la sangre arterial de 20 mujeres gestantes y la sangre capilar de 15 de sus fetos en el periodo de inicio de trabajo de parto fisiológico; de los resultados obtenidos, se calcularon las medias aritméticas de Hb, Ht, glucosa y ATP que se presentan en los cuadros No. 1 y No. 2, también en ellos se incluye la desviación estandar de las determinaciones antes mencionadas.

Cuadro No. 1

VALORES DETERMINADOS EN LA SANGRE ARTERIAL DE MUJERES GESTANTES

	Hb	Ht	GLUCOSA	ATP
n	20	20	20	20
\bar{x}	12.28	37.55	74.95	8.79
D.E.	0.91	2.84	13.16	1.36

Cuadro No. 2

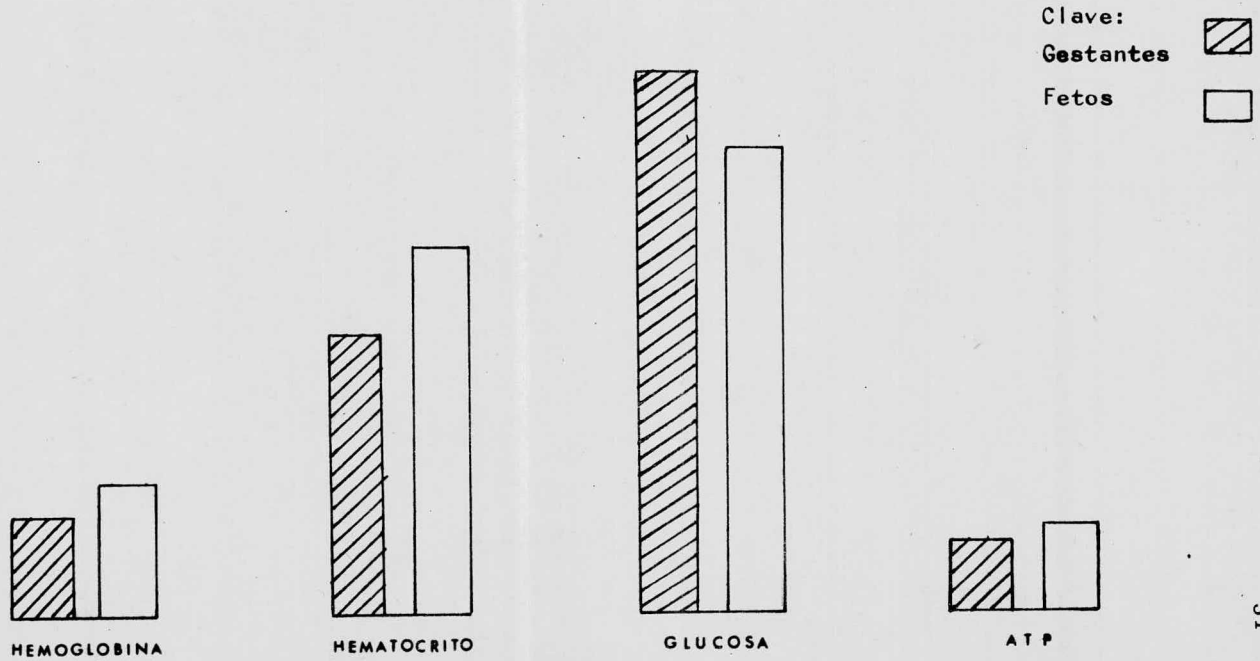
VALORES DETERMINADOS EN LA SANGRE CAPILAR FETAL

	Hb	Ht	GLUCOSA	ATP
n	15	15	13	15
\bar{x}	16.2	50.36	64.23	10.31
D.E.	1.44	4.98	10.77	2.42

En la gráfica No. 2 se presenta una comparación de los resultados obtenidos en las gestantes y sus fetos; como puede observarse, la cantidad de Hb y Ht se encuentra en mayor proporción en el feto que en la madre. La glucosa en el feto es sensiblemente inferior a la encontrada en la madre, no así el contenido de ATP, el cual es mayor en un 17% aproximadamente en el feto.

Grafica No. 2

COMPARACION DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LA SANGRE ARTERIAL MATERNA
Y LA SANGRE CAPILAR FETAL.



D I S C U S I O N

En el presente trabajo pudo comprobarse una vez más que en la sangre arterial materna el contenido de Hb y Ht es menor que el de la sangre fetal; esto puede explicarse tomando en cuenta varios factores, entre ellos, los cambios que sufre el volumen del plasma sanguíneo materno al término de la gravidez que ocasionan una dilución del Ht, Hb y viscosidad sanguínea (4); algunos autores han demostrado que en el feto la frecuencia relativa de producción eritrocítica durante los dos últimos meses de gestación es de 3-5 veces superior que la que ocurre en los adultos normales (20) y por lo tanto sus valores de Hb y Ht son más altos.

Se sabe que la transferencia de la molécula de ATP de la circulación materna a la placenta o viceversa no es posible, ya que el ATP sintetizado dentro de la célula no pasa a través de la pared celular intacta (16). Nuestros resultados apoyan lo anterior puesto que encontramos niveles diferentes de ATP en la madre y su producto.

El eritrocito fetal al término de la gestación ha desarrollado sus propias vías metabólicas (21) que le proporcionan la cantidad de energía necesaria para mantener su forma biconcava, niveles altos de potasio bajos en sodio, el hierro de la hemoglobina en forma divalente, los grupos sulfhidrilo de la hemoglobina en forma activa y reducida, etc. (20) lo cual es necesario para que el eritrocito pueda realizar su principal función de transporte de oxígeno y dióxido de carbono. El hecho de que los eritrocitos fetales presenten un contenido mayor de ATP en comparación con los de la sangre materna debe

tener varias explicaciones; entre estas podemos mencionar el incremento de la producción eritrocítica en el feto, mayores requerimientos energéticos del feto, etc.

Se sabe que los eritrocitos fetales consumen mayor cantidad de glucosa que los eritrocitos de adultos (20) lo que repercute en la baja del nivel de glucosa sanguínea; en el presente estudio pudimos observar esto al comprobar que los niveles de glucemia fueron mayores en las madres estudiadas, que en sus productos.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

A través del tiempo se ha podido establecer que el trifosfato de adenosina es el compuesto clave necesario para que el organismo pueda efectuar las funciones que requieren un gasto de energía, por tal motivo en el presente estudio se investigaron los niveles de ATP eritrocítico, la cantidad de glucosa - que es la molécula combustible por excelencia y los valores de Hb y Ht ya que éstos nos proporcionan una idea de la cantidad de eritrocitos existentes en la sangre arterial materna y capilar fetal, con el propósito de establecer los niveles basales energéticos con que cuenta el binomio feto-materno en el inicio del periodo de parto fisiológico.

Se pudo apreciar que los niveles de ATP, Hb y Ht son menores en la mujer gestante que en su feto, - en cambio los valores de glucosa son mayores en relación a los determinados en el feto; de estos resultados se puede concluir que el feto al término del embarazo tiene una producción de eritrocitos mayor que en el adulto normal y además cuenta con mecanismos propios para satisfacer sus requerimientos energéticos, lo cual se refleja en sus bajos niveles de glucosa.

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

- 1.- Leninger, A.L.: Bioquímica, Ed. Omega, Barcelona. 305, 341-345, 355-362, 405. 1972.
- 2.- Harper, Harold A.: Manual de Química Fisiológica. Ed. El Manual Moderno S.A. Tercera Edición. México. 260, 271, 359. 1971.
- 3.- Guyton, A.: Tratado de Fisiología Médica. Ed. Interamericana. Cuarta edición. México. 1028-1041.- 1971.
- 4.- Houssay, B.A.: Fisiología Humana. Ed. "El Ateneo". Cuarta edición. Argentina. 848-855. 1974.
- 5.- Madrid, C.C., Guevara D.G.: El Equilibrio Acido-Base en el Feto y Recien nacido. Monografía de Ginecología y Obstetricia. AMERHGOV. 263-274. -- 1970.
- 6.- Tietz, Norbert W.: Química Clínica Moderna. Nueva Editorial Interamericana. Primera edición. México. 162, 274, 275. 1972.
- 7.- Manual de Procedimientos del Laboratorio Clínico. I.M.S.S. 299. 1970.
- 8.- Wintrobe, M.M.: Clinical Hematology. Ed. Lea and-Fehiger. Quinta edición. Philadelphia. 34-36. 1961.
- 9.- O'Brien, D., Ibbott, F.A., Rodgerson, D.O.: Laboratory Manual of Pediatric Micro-Biochemical Techniques. Hoeber Medical Division Harper and Row - Publisher. Cuarta edición. New York. 187. 1968.

- 10.- Bü cher, Th.: Biochim. Biophys. Acta (Amst). - 1: 292, 1947.
- 11.- Cuantificación del ATP por microanálisis. En - prensa.
- 12.- Bergmeyer, H.U.: Methodes of Enzymatic Analysis. Ed. Academic Press. Second edition. New York. - 1965.
- 13.- Bergmeyer, H.U.: Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.- 13: 507, 1975.
- 14.- Gutiérrez Hidalgo E., Karchmer, K.S.: Aplica- - ción del Microanálisis para la Determinación de Glucosa por el Método de la Orto-Toluidina. Re- vista Médica del I.M.S.S. Vol. X. Num. 2: 93-98, 1971.
- 15.- Albaum, H.G., et. al.: Blood Levels of Adenine Nucleotides. J. Clin. Invest. 30: 525-530, - 1951.
- 16.- Bishop Charles, et. al.: The Nucleotides in - Normal Human Blood. J. Biol. Chem. 234: 1233 - 1237, 1958.
- 17.- Sofrová, D., et. al.: Die Bedeutung von ATP im- Blut bei der Geburt. Gynacologia. 166:297-303, 1968.
- 18.- Horská, S., et. al.: Variation of ATP Content- of Foetal Blood after Hypoxia in Childbirth. - Biol. Neonat. 14: 279-285, 1969.

- 19.- Bacigalupo, G., et. al.: A New Aspect of -
Blood 5'-Adenosine Triphosphate in Fetal and -
Neonatal Hypoxia. Am. J. Obstet. Gynecol. -
114 (5): 631-638, 1972.
- 20.- Williams, J., Beutler, E., Ersleva, R.: Hemato-
logía tomo I. Salvat editores S.A. Barcelona.-
55, 134-144. 1975.
- 21.- Gross, T.R., et. al.: Energy Metabolism in the -
Eritrocites or Premature Infante Compared to -
Full Term Newborn Infants and Adults. Blood. -
21 (6): 755-761, 1963.



TESIS "CLASICAS"

**PASEO DE LAS FACULTADES 32-D
FRACC. COPILCO UNIVERSIDAD
CIUDAD UNIVERSITARIA 20. D. F.**