

UNIVERSIDAD MOTOLINIA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



Fraccionamiento Electroforético de Proteínas Séricas en Sangre materna y

T E S I S

Que para obtener el título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a :
BEATRIZ MARIA CURIEL CABRERA

MEXICO, D. F.

1964



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.

Gracias te doy madre mia, por haberme permitido llegar a la culminación de mi carrera.

A mis queridos padres con amor y gratitud.

Carinosamente a mis hermanos.

A mi abuelita y mamá Vengo con todo mi
carlño.

Hago presente mi agradecimiento al Hospital de Gineco-Obstetricia del Centro Médico Nacional, por permitir el desarrollo de este Testin bajo la dirección del Sr. Químico Farmacéutico Biólogo Guillermo Burgos Tovar, así como la valiosa cooperación del Sr. Dr. José Luna del Villar.

C O N T E N I D O

C A P I T U L O I

Introducción

C A P I T U L O II

Fundamentos Teóricos

C A P I T U L O III

Material y Método

C A P I T U L O IV

Resultados

C A P I T U L O V

Conclusiones

C A P I T U L O VI

Sumario

C A P I T U L O VII

Bibliografía

C A P I T U L O

INTRODUCCION.

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

Es un hecho conocido, desde 1926, que las proteínas séricas en sangre materna, fetal y de adultos normales, presentan variaciones tanto en la cantidad total como en algunas de sus fracciones (1) (2). Los valores obtenidos por varios investigadores no están completamente de acuerdo, pero sistemáticamente se observan ciertas diferencias en los trabajos publicados.

Así, las proteínas séricas totales en sangre fetal, son más bajas que las del adulto normal, pero la relación A/G (albúmina globulina), varía poco en ambos casos. Por otra parte, las proteínas maternas, durante las fases terminales del embarazo, se mantienen aproximadamente iguales que en el adulto normal pero, según los datos aportados por Longworth, Curtis y Pembroke (3) hay una marcada elevación de la fracción β globulínica, sin embargo la relación A/G es baja. Brown (4) observó una disminución constante en dicha relación de 1.5 al inicio del embarazo hasta 0.8 en el último trimestre de la gestación.

El presente estudio tiene por objeto investigar la distribución de las proteínas séricas en sangre materna y fetal, en partos normales, con objeto de extender nuestros conocimientos sobre las alteraciones que tienen en el curso de la gestación.

Entre los procedimientos para conocer las variaciones de las proteínas, contamos actualmente con la electroforesis en electrolitos estabilizados, especialmente la electroforesis en papel, método bien establecido y ampliamente usado en análisis bioquímicos. Sus características de microanálisis constituyen el principal argumento para su adopción, preferentemente a los métodos tradicionales de precipitación salina, con alcohol, etc.

Los primeros informes sobre el uso del papel como medio de soporte en las técnicas electroforéticas fueron dados por Künning en 1937 (5) que -- junto con Klobusitzky en 1939 (6) reportan el uso del papel saturado con una solución electrolítica para la separación electroforética de proteínas. No obstante, hasta 1950 se adopta definitivamente la electroforesis en papel y se establecen los principios de este procedimiento.

Los trabajos al respecto son numerosos y entre los más destacados tenemos los de Burrum (7) Mc Donald (8), Cromer y Tiselius (9), Kraus y Smith (10), Grassman y Manning (11).

C A P I T U L O II

FUNDAMENTOS TEORICOS.

Influencia de la Fuerza Iónica y el pH de la Solución Buffer

Electrosmosis y Evaporación.

Proteínas plasmáticas

Albumina

Alfa globulinas

Beta Globulinas

Gama globulinas

FUNDAMENTOS TEÓRICOS.

Si se permite la migración electroforética sobre papel filtro o algún otro medio poroso, se está en condiciones de estabilizar la migración, lo que significa una ventaja considerable sobre la electroforesis libre al -- evitar las corrientes de convección causadas por el calor, así como la ligada anomalía β . En consecuencia, el equipo se simplifica.

El desplazamiento en el papel depende, en primer lugar, de la naturaleza de los iones, de la magnitud y signo de su carga neta, de que sea una dispersión coloidal (iones protéicos) o molecular (amino-ácidos, colorantes, etc.), de que su forma sea esférica o fibrosa; depende, además, de una serie de factores físico-químicos como: fuerza iónica, pH, concentración electrolítica, temperatura y viscosidad. Para las proteínas conviene utilizar un pH ligeramente superior a su punto isoeléctrico, de ese modo la proteína cargada negativamente presenta una menor adsorción sobre el papel filtro que las cargadas positivamente. Junto con las características eléctricas tales como intensidad de corriente y voltaje debe considerarse la composición del papel puesto que éste, como medio de soporte sólido, ofrece cierta resistencia a la electromigración.

La adsorción de las proteínas sobre la celulosa dependerá tanto de los factores químicos como de los físicos influyendo, en consecuencia, las materias primas de la fabricación y el grado de pureza de la celulosa (12).

INFLUENCIA DE LA FUERZA IÓNICA Y EL pH DE LA SOLUCIÓN BUFFER.

Para comprender las reacciones de las proteínas con protones, es decir, iones H^+ , es necesario ampliar los siguientes conceptos.

El primero de ellos es el de fuerza iónica (μ) de una solución, que se calcula por la ecuación:

$$u = \frac{1}{2} \sum (m Z)^2$$

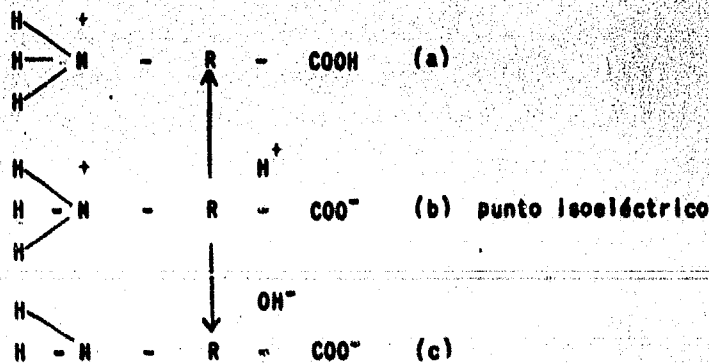
En la cual Σ indica la suma del término mZ^2 para cada clase de ión presente en la solución, m es la molaridad del ión y Z su valencia.

Muchos efectos no específicos de las sales son más fácilmente descritos en términos de fuerza iónica que en términos de molaridad. No hay instrumentos que midan la fuerza iónica de una solución, sin embargo la conductividad eléctrica para una sal, dada, es proporcional a la fuerza iónica. (13).

Debe tenerse en cuenta que la composición química del sistema tampón no es indiferente para los resultados de la electroforesis en papel, ya que al ser adsorbidos los iones por las partículas protéicas contribuyen a su carga eléctrica. En la práctica se prefieren soluciones amortiguadas de iones monovalentes y para la electroforesis en papel el margen óptimo de fuerza iónica cae entre 0.100 y 0.05.

El pH de la solución buffer influye en forma importante sobre la movilidad de las partículas emigrantes especialmente cuando éstas son anfóteras como en el caso de las proteínas, amino-ácidos, péptidos, etc.

Esta influencia puede representarse esquemáticamente como sigue:



Se observa que la carga neta del anfólito es cero en el punto isoeléctrico. Si el buffer usado en la separación de una sustancia de este tipo tiene su pH en el lado ácido de su punto isoeléctrico, la sustancia adquiere carga positiva y se dirige al cátodo (a); si por el contrario, el pH es alcalino, el anfólito se desplaza en sentido anódico (c) bajo las condiciones de la electroforésis. En general, este es el mecanismo aplicado en la separación de proteínas. Las mejores separaciones se logran con soluciones buffer de pH entre 8 y 9, siendo 8.5 el ideal. (14)

ELECTROSMOSIS Y EVAPORACION.

Además del voltaje e intensidad, las sustancias emigrantes quedan bajo el efecto de una fuerza electrosmótica opuesta. Estos fenómenos de actuación simultánea se denominan "Fenómenos Electrocinéticos". La electrosmosis proviene, en primer lugar, de la carga negativa que adquiere el papel filtro con respecto a la solución buffer. Puesto que el papel filtro, como sistema capilar, representa la fase estacionaria, se transmite así el efecto a la solución amortiguadora. Dicha solución está cargada positivamente frente al papel y presenta, por lo tanto, una corriente en dirección al cátodo. Esta corriente es aproximadamente proporcional a la caída de tensión y puede ser medida con sustancias que no tomen parte en la conducción y que no sean absorbidas por la celulosa. (15).

El movimiento de la solución, en las tiras de papel, está también influido por los siguientes efectos: puede suceder que por ser diferentes los niveles de la solución buffer se presente un efecto sifón, entonces deben igualarse los niveles. Puede presentarse también un fenómeno de evaporación de la solución, debida al calor producido por la circulación de la corriente. El calor crece con el cuadrado del voltaje cuando en la tira de papel permanece constante la conductibilidad y conduce a una concentración de la solución amortiguadora modificando la fuerza iónica.

Para medir la velocidad de migración de los iones, el voltaje debe --

permanecer prácticamente constante mientras tiene lugar la electroforesis. Esto se favorece disminuyendo la evaporación, para lo cual puede usarse -- glicerina o alcohol propílico del 5 al 15 % mezclado con el buffer (16). -- También ayuda a una rápida nivelación con el medio exterior, el uso de paredes delgadas en la cámara húmeda y que esté fabricada con material que sea buen conductor de calor.

PROTEÍNAS PLASMÁTICAS.

Las proteínas plasmáticas están constituidas por una mezcla compleja de sustancias que difieren en sus propiedades y funciones. Los componentes más importantes de las proteínas plasmáticas comprenden:

- a).- Albúmina
- b).- Varias globulinas
- c).- Fibrinógeno
- d).- Lipoproteínas, nucleoproteínas y seroncoides, que pueden clasificarse como globulinas o como albúmina.

La electroforesis proporciona un método excelente para fraccionar las mezclas de proteínas sin que sufran desnaturalización.

Cuando la separación se practica en las condiciones previamente descritas y empleando colorantes selectivos como el azul de bromofenol se obtienen diagramas formados de cinco curvas, correspondientes a la albúmina, alfa 1 globulina, alfa 2 globulina, beta globulina y gama globulina.(Fig.1)

ALBUMINA

En el suero humano normal, aproximadamente 60 % de las proteínas totales es albúmina, su peso molecular es de 69,000 y su concentración es aproximadamente 6×10^{-4} moles, o más de 3×10^{17} moléculas por mililitro. Debido a su concentración molecular relativamente alta tiene un importante -

papel como regulador de la presión osmótica.

Una función primaria de la albúmina es, aparentemente, la de mantener el equilibrio hídrico.

La albúmina tiene un punto isoelectrico de 4.8 o sea, es el más bajo de los componentes proteicos del plasma: esto y su carga neta relativamente alta explica por qué la migración electroforética de esta fracción es más rápida que en los otros componentes en medio neutro o ligeramente alcalino. La carga neta elevada depende directamente de la presencia de un gran número de grupos titulables y se han calculado 180 grupos titulables por mol.

A un pH de 7.4, o sea el de la sangre, la albúmina tiene una carga neta negativa de 18. Estas propiedades ayudan a explicar su solubilidad extraordinariamente alta.

SINTESIS DE ALBUMINA.-

El hígado, parece ser el órgano responsable de la síntesis de la albúmina. En pacientes con enfermedades hepáticas severas como cirrosis, síndrome de Banti y hepatitis crónica, hay una marcada disminución en la cantidad de albúmina circulante. Se conoce que la albúmina está presente dentro de la célula hepática por el hecho de que una fracción proteica con movilidad semejante a la albúmina se encuentra en extractos hepáticos después de sujetarlos a perfusión para remover la sangre del sistema vascular. Extracciones con mezclas 1:1 de cloruro de sodio al 2 % y alcohol butílico, revelan 8 componentes, uno de los cuales tiene movilidad de albúmina y representa 10-15 % del total. Por incubación de hígado de pollo finamente fragmentado, en un medio de bicarbonato, Peter y Anfisen (17) demostraron que la cantidad de albúmina sérica, en el medio y en el homogenizado del hígado, aumentan durante el período de incubación. Cuando los fragmentos de hígado fueron incubados en presencia de bicarbonato radioactivo-

o glicina radioactiva, la albúmina adquirió radioactividad. De manera análoga, perfundiendo hígados completos de rata con sangre total oscura, Miller (18), fué capaz de mantener un metabolismo aparentemente normal por muchas horas y concluyó que el hígado sintetiza prácticamente todo el fibrinógeno, la albúmina, más del 80 % de globulinas. Por medio de su técnica de perfusión se demostró también que el por ciento de amino-ácidos convertidos por el hígado en CO₂, y el porcentaje utilizado en la síntesis de proteínas hepáticas y plasmáticas fué el mismo que el del animal intacto.

Campbell y Stone (19) incubaron tejidos hepáticos con glicina marcada con carbono 14 y obtuvieron una incorporación de radioactividad en las proteínas tisulares solubles precipitadas por un antisuero de la albúmina sérica.

Parece, en consecuencia, que el hígado es responsable de la síntesis de albúmina sérica y fibrinógeno y una porción de alfa y beta globulinas.

ALFA Y BETA GLOBULINAS.

Cuando Tiselius estudió el suero humano en la celda electroforética, las condiciones eran tales que sólo cuatro componentes se manifestaban.

Se estableció que la fracción presente en mayor proporción, que además presentaba mayor movilidad, correspondía burdamente a la albúmina separada químicamente.

Las otras tres fracciones, se denominaron alfa, beta y gamma globulinas, en relación con su movilidad decreciente.

El número de fracciones electroforéticas puede variar cambiando las condiciones de estudio y, las tres globulinas séricas originalmente descritas por Tiselius, han resultado ser más complejas.

En 1942 Longworth (20) informa que al usar buffers diferentes a pH altos, otro componente del suero humano que se movía previamente con la --

albúmina, se manifiesta entre la albúmina y la alfa globulina. Esta nueva fracción se llamó alfa 1 globulina y el buffer de veronal, con pH de 8.6 descrito por Longworth, se emplea desde entonces por la mayoría de los investigadores.

Los complejos alfa y beta globulinas sirven en el transporte e intercambio de lípidos y sustancias liposolubles.

Grandes cantidades de colesterol, fosfolípidos, ácidos grasos, así como varias vitaminas liposolubles y hormonas, en su mayor parte no se encuentran libres, pero son transportadas por las alfa y beta globulinas a las cuales se unen en soluciones de concentraciones relativamente altas, considerando que son virtualmente insolubles en agua pura o soluciones acuosas salinas.

Las alfa y beta globulinas están formadas por moléculas cuyo peso oscila entre 90,000-1,000,000. El número y magnitud de los componentes electroforéticos en el suero humano, que cae dentro del grupo de las alfa y beta globulinas, varía ampliamente tanto en estados normales, como anormales o patológicos.

GAMA GLOBULINAS.

Las gama globulinas están formadas por moléculas alargadas, de peso molecular aproximado de 160,000; aunque se han identificado, conjuntamente, pequeñas cantidades de moléculas mayores. La gama globulina humana contiene 10 a 15 % de un componente de peso molecular igual a 1'000.000. Los componentes pesados emigran en la parte anterior del grupo gama globulina y son relativamente ricos en carbohidratos conteniendo hexosa, fucosa, heptosamina y ácido silícico.

La mayoría de los anticuerpos están contenidos en las gama globulinas, pero tal función se aprecia también en las otras fracciones plasmáticas.

A partir del plasma, se han separado dos fracciones denominadas gama 1 y gama 2, por tratamiento con alcohol a bajas temperaturas o por precipitación salina. Por métodos inmunolectroforéticos se ha podido aclarar que la gama globulina no es homogénea, por lo tanto, no es posible hablar de su punto isoelectrico, sino más bien de un rango isoelectrico que va de 6.3 a 7.3. Aproximadamente un 20 % de las proteínas plasmáticas están constituidas por esta fracción globulínica..

no

7

1

o

C

bl

atro

ta

o p

JAL

o

e

18

20

y

o

na

ci

C A P I T U L O III

MATERIAL Y METODO.

Método Electroforético

**Equipo
Material**

Técnica

Fraccionamiento Electroforético

Coloración

Valoración

Determinación de Proteínas Totales.

MATERIAL Y METODO .

Nuestro material estuvo integrado por 51 mujeres con embarazo normal a término, cuya edad promedio fué de 27 años, a las cuales se tomó sangre de vena cubital inmediatamente después del parto. Simultáneamente se obtuvieron muestras de sangre fetal directamente del cordón umbilical.

Únicamente las sangres sin hemólisis visible se incluyeron en nuestro estudio.

Se procedió a fraccionar las proteínas séricas por electroforesis en papel, previa centrifugación de la sangre a 3,000 r.p.m. empleando el método de Durrum (7). Las proteínas totales se cuantificaron por el método de Biuret (21).

METODO ELECTROFORETICO:

Equipo:

- a) Celda electroforética de Durrum SPINCO, Mod. R, Serie B y accesorios.
- b) Regulador de voltaje SPINCO DUOSTAT
- c) Integrador SPINCO ANALYTROL RB.
- d) Micropipetas SPINCO-PART 300-816, graduadas a 0.006 - 0.008 μ l.

Material:

- a) Tiras de papel filtro SCHLEICHER/SCHUELL 470 de 31.8 x 5.1 cms.
- b) Tiras de papel filtro SCHLEICHER/SCHUELL 2043 A de 3.0 por 30.6 cms.

- c) Solución amortiguadora de fuerza iónica 0,075 y pH de 8,8: disolver 2,76 gr. de ácido dietil barbitérico y 15,40 gr. de barbital sódico en agua destilada, aforar a 1,000 c.c.
- d) Solución de azul de bromofenol: disolver 1 gr. del colorante en metanol Q.P. y aforar a 1,000 c.c.
- e) Metanol Q.P.
- f) Solución de ácido acético glacial al 5 %

Técnica:

Método de Durrum:

- a) Fraccionamiento electroforético
- b) Coloración
- c) Valoración

a) Fraccionamiento electroforético.-

Se requiere el uso de la celda de Durrum, que consiste en un recipiente cuadrangular de plástico acrílico, dividido en su parte media y a lo largo, por un tabique del mismo material, formando dos vasos independientes en donde se coloca la solución amortiguadora. En cada vaso se encuentra un electrodo de platino comunicado al exterior con el regulador de voltaje.

La cubierta en forma de "V" invertida, presenta una ranura en su parte superior, lo que facilita la introducción de la micropipeta empleada en la aplicación de la muestra.

Se vierte la solución amortiguadora en dichos vasos, se igualan los niveles y, colocando las tiras en el bastidor de plexiglass, se ponen de -

modo que queden en íntimo contacto con la solución buffer a través de dos tiras de papel filtro Schleicher-Schuell 470, que estén sostenidas por una pequeña hoja de plástico que se inserta en el interior de la celda.

Colocadas las tiras en la celda y, previamente humedecidas con la solución buffer, deben permanecer 15 minutos en la celda cerrada con objeto de eliminar el exceso de líquido y saturar de vapor la cámara. Se hace la aplicación de la muestra de suero (0.004 ml), y se deja correr durante 16 horas a 2.5 voltios, intensidad constante de 15 mA (variación máxima de intensidad: 2 %).

b) Coloración.-

Este paso consta de cinco fases:

1) Introducir las tiras al horno y secar a 120-130°C, durante 30 minutos.

Esto tiene por objeto desnaturalizar la proteína.

2) Pasarlas a un baño de metanol Q.P. durante 6 minutos.

3) Someterlas a un baño del colorante azul de bromofenol por 30 minutos y dar tres baños sucesivos en solución de ácido acético glacial al 5 % con duración de 6 minutos cada uno.

4) Secarlas nuevamente al horno, a igual temperatura, durante 15 minutos.

5) Sujetarlas a la acción de vapores amoniacales durante un mínimo de 15 minutos, para inmediatamente proceder a la valoración.

c) Valoración.-

La evaluación de las tiras se llevó a cabo por fotometría directa en el equipo Analytrol, calibrado con abertura de 1 mm. (Sit II), filtro 82.) (22).

Las superficies de cada fracción protéica se relacionan con la cantidad total de proteínas.

DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS TOTALES.

Reactivos:

a) Cloruro de sodio al 0.85 % : en un matraz volumétrico de 1,000 ml poner 8.5 gr. de cloruro de sodio y aforar a la marca con agua destilada.

b) Reactivo de Biuret: en un frasco volumétrico de 1,000 ml poner 1.5 gr. de sulfato de cobre y 6 gr. de tartrato doble de sodio y potasio, agregar aproximadamente 50 cc. de agua destilada y agitar hasta disolución; agregar, con agitación constante, 300 cc. de hidróxido de sodio 2.5 N y mezclar, agregar 1 gramo de yoduro de potasio y agitar hasta disolución.

Aforar a volumen (1 litro) y conservar en frasco oscuro.

La estabilidad del reactivo es indefinida, pero debe descartarse si se forma un precipitado negro rojizo.

Técnica de proteínas totales:

a) En un tubo de ensaye poner 9.5 cc. de cloruro de sodio al 0.85 % y 0.5 cc. de suero problema. Mezclar perfectamente.

b) En tubo de ensaye de 18 x 150 ml., poner 2 ml., de la muestra diluida.

c) En otro tubo de ensayo de 18 x 150 ml., que servirá de blank, poner 2 ml., de suero de séalo al 0.65 %.

d) A cada tubo agregar 8 ml., de reactivo de Biuret y mezclar por inversión.

e) Medir la transmitancia de la muestra contra el blank, llevando a 100 % de transmisión con longitud de onda de 540 o filtro verde. Las lecturas siempre se efectuaron contra un suero de concentración conocida ---- (Lab-Trol, de la casa DADE).

Cálculos:

$$\text{Conc. gr \%} = \frac{\text{D.O. problema} \times \text{Conc. standard}}{\text{D.O. standard}}$$

D.O. = Densidad Óptica.

C A P I T U L O I V

R E S U L T A D O S .

R E S U L T A D O S

Las fracciones de proteínas séricas obtenidas en 58 personas aparentemente normales con edad promedio de 25 años, previamente determinadas en nuestro laboratorio⁽²³⁾ se representan en el cuadro I y gráficas I y III.

Es de hacer notar que los valores medios en cifras absolutas y relativas son sensiblemente iguales a los datos aportados por Sunderman y Sunderman⁽²⁴⁾.

En los cuadros 2 y 3 se muestra la distribución de proteínas séricas en 51 mujeres durante el noveno mes del embarazo y los valores correspondientes obtenidos en sangre fetal. Es aparente, en estos dos cuadros, que los niños nacidos a término tienen una elevada concentración absoluta y relativa, de albúmina (ver gráficas II y IV) así como una disminución de las fracciones α_2 y β globulinas con respecto a la sangre materna. Estas diferencias son significativas.

Por otra parte no hay cambios importantes en las cantidades totales de α_1 y γ globulinas, pero la cantidad por ciento de esta fracción es superior en el niño con relación a la madre y al grupo normal, ya que en la sangre de cordón un 18.99% está formado de γ globulina y la sangre mater

na y normal sólo tiene un 17.7 y 15.8% respectivamente.

La cifra total de proteínas maternas es ligeramente más baja que el grupo normal con una concentración media de 6.29 ± 0.4 frente a 6.84 ± 0.60 del grupo control.

CUADRO 1

VALORES OBTENIDOS EN CASOS NORMALES (58 CASOS)

	ALBUMINA	GLOBULINAS				PROT. TOT.	REL. A/G
		α_1	α_2	β	γ		
D.E.	± 0.551	± 0.085	± 0.102	± 0.121	± 0.220	± 0.604	± 0.594
M.2	4.22	0.26	0.53	0.74	1.09	6.99	1.6/1
E.T.							
M.1	61.2	3.8	8.3	10.9	15.8		
V	5.13 - 736	1.1 - 6.6	4.1 - 10.6	7.3 - 15.4	9.8 - 22.6		

D.E. = desviación standard

M.2 = media grs/100 ml.

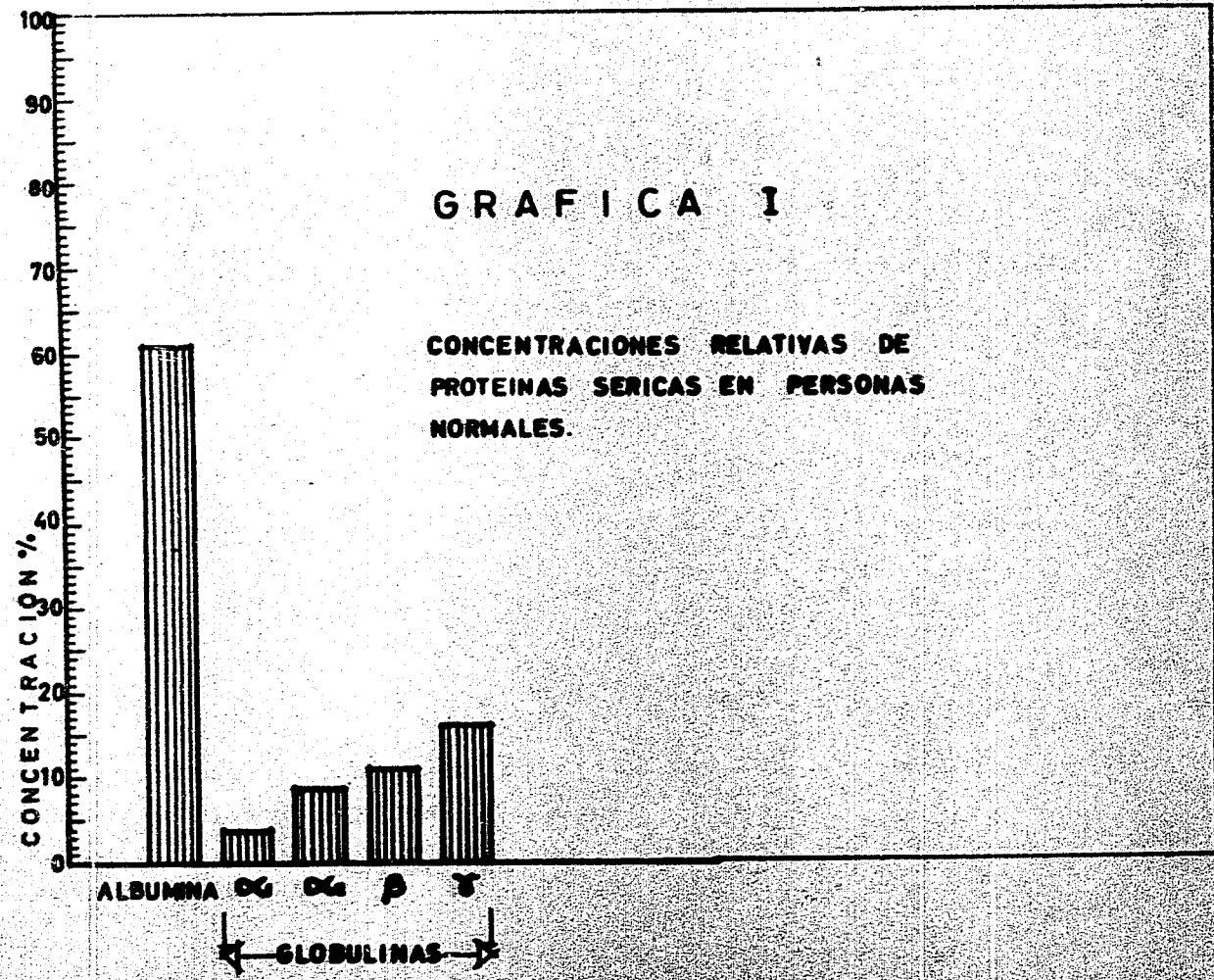
E.T. = error tipo

M.1 = media %.

V = variación %.

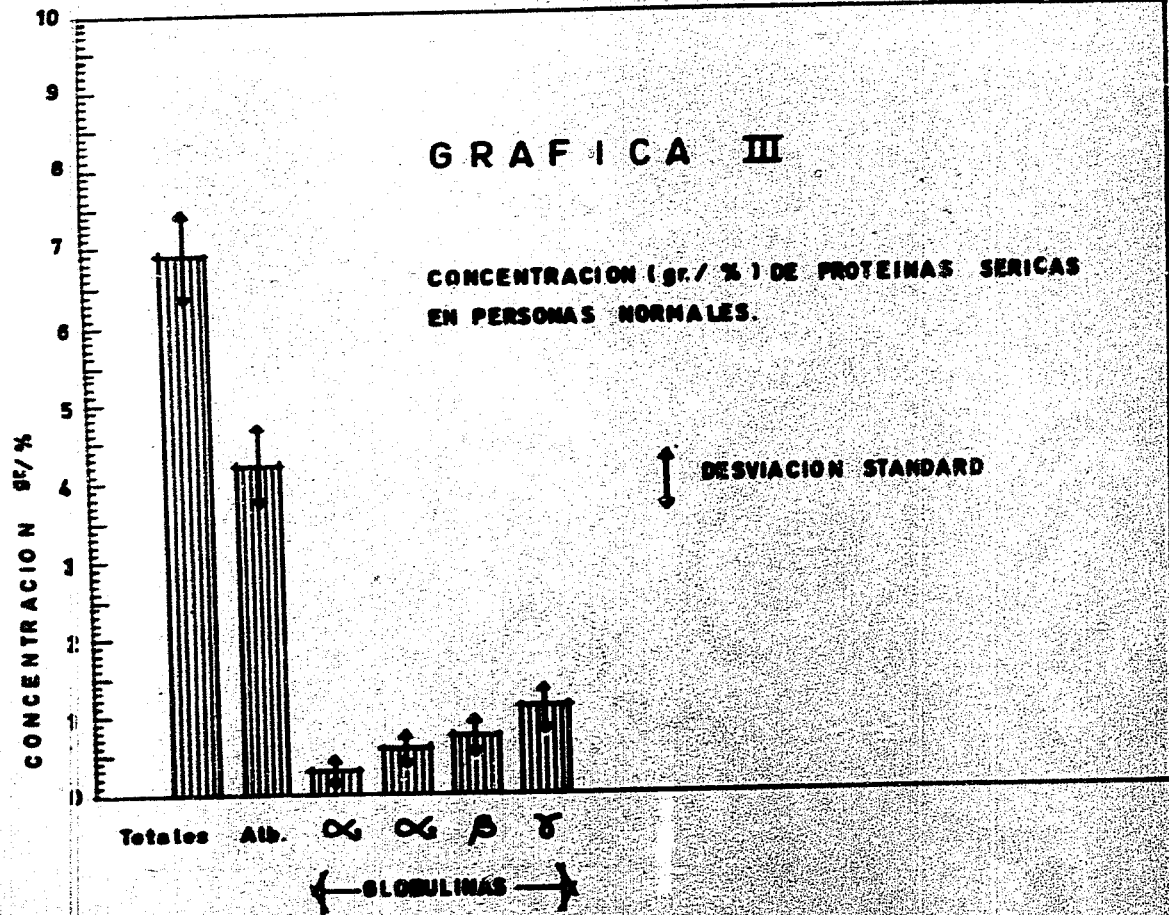
GRAFICA I

CONCENTRACIONES RELATIVAS DE
PROTEINAS SERICAS EN PERSONAS
NORMALES.



GRAFICA III

CONCENTRACION (gr. / %) DE PROTEINAS SERICAS
EN PERSONAS NORMALES.



CUADRO 2

VALORES OBTENIDOS EN SANGRE MATERNA (51 CASOS)

	ALBUMINA	GLOBULINAS				PROT. TOT.	REL. A/G
		α_1	α_2	β	γ		
D.E.	3.14 ± 0.30	0.35 ± 0.07	0.65 ± 0.11	1.01 ± 0.19	1.09 ± 0.23	6.29 ± 0.48	1.0/1 ± 0.16
M.2	3.14	0.35	0.65	1.01	1.09	6.29	1.0/1
E.T.	0.043	0.010	0.016	0.027	0.033	0.056	0.025
M.1	49.94	5.67	10.43	16.48	17.78		
V	40.66 - 58.33	3.57 - 8.08	6.89 - 15.58	11.11 - 22.96	9.93 - 24.03		

D.E = desviación standard

M.2 = media grs/100ml.

E.T = error tipo

M.1 = media %

V = variación %

CUADRO 3

VALORES OBTENIDOS EN SANGRE FETAL (51 CASOS)

	ALBUMINA	GLOBULINAS				PROT. TOT.	REL. A / G
		α_1	α_2	β	γ		
D. E.	3.49 ± 0.38	0.22 ± 0.04	0.33 ± 0.06	0.39 ± 0.09	1.03 ± 0.16	5.61 ± 0.55	18/1 ± 0.23
M 2	3.49	0.22	0.33	0.39	1.03	5.61	18/1
E. T.	0.054	0.006	0.008	0.012	0.023	0.077	0.032
M 1	63.31	4.09	6.25	7.36	18.69		
V	56.39 - 67.63	1.92 - 5.91	4.25 - 8.12	3.76 - 11.39	14.48 - 24.73		

D. E. = desviación standard

M 2 = media g¹⁰⁰/100 ml.

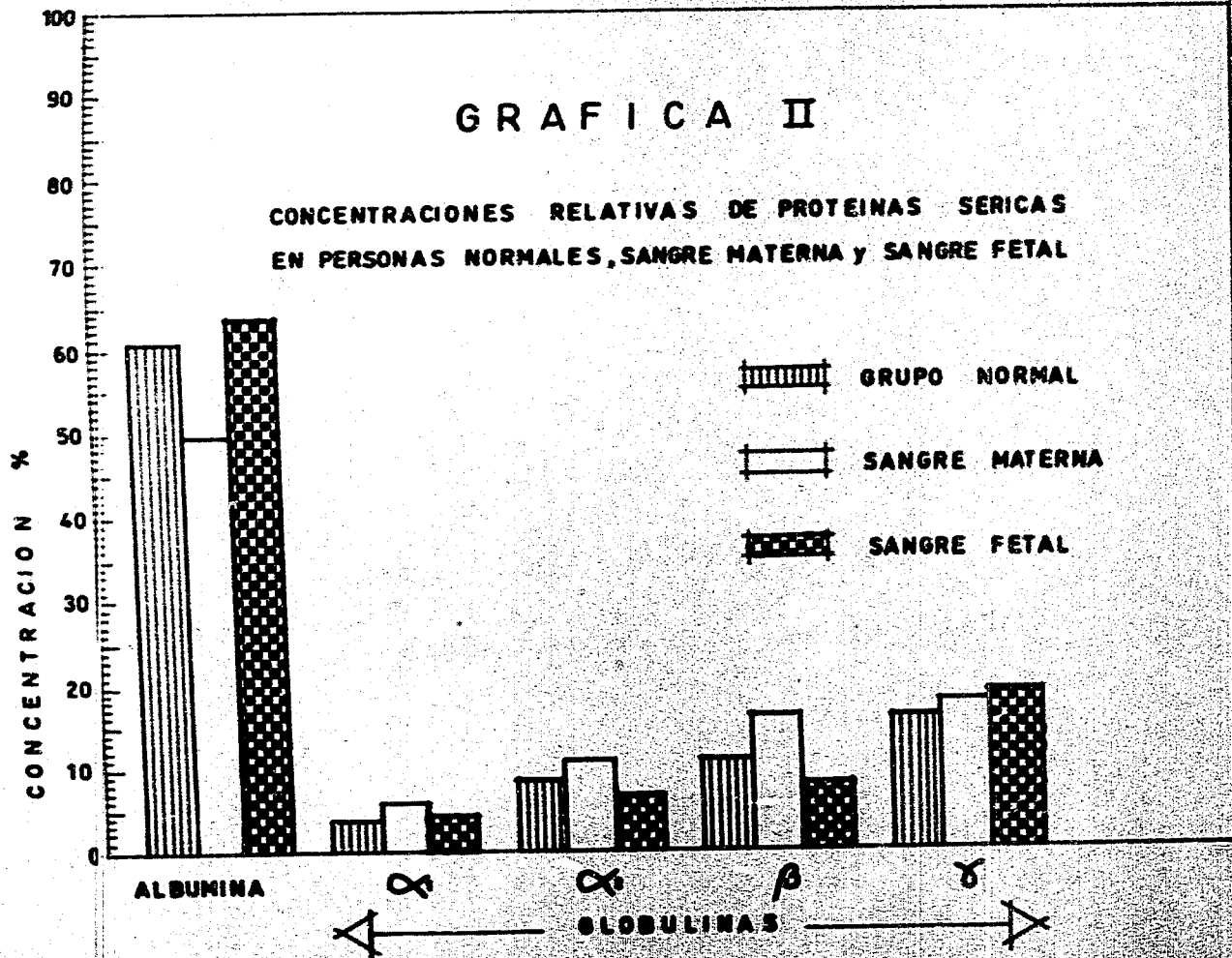
E. T. = error tipo

M 1 = media %

V = variación %

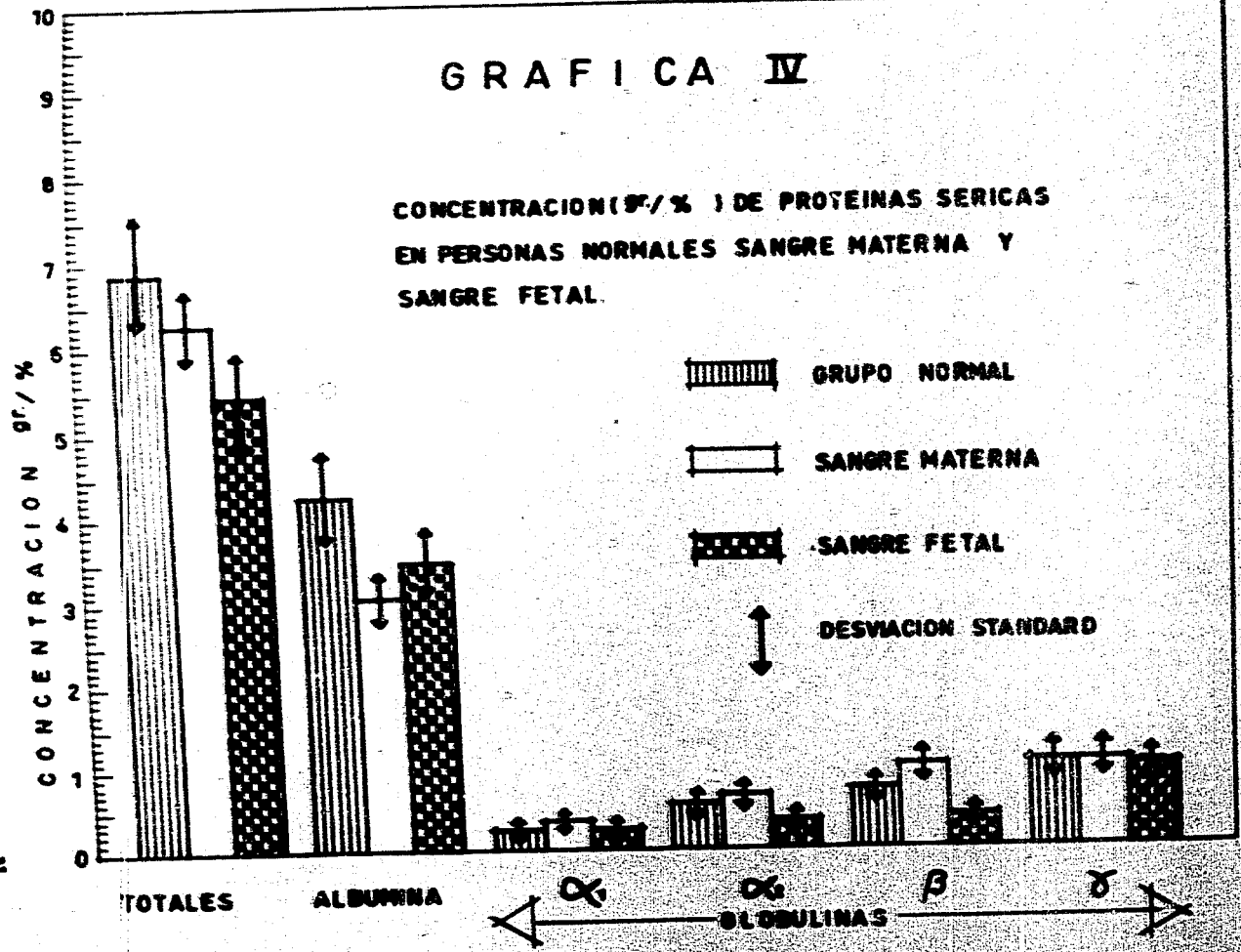
GRAFICA II

CONCENTRACIONES RELATIVAS DE PROTEINAS SERICAS
EN PERSONAS NORMALES, SANGRE MATERNA y SANGRE FETAL

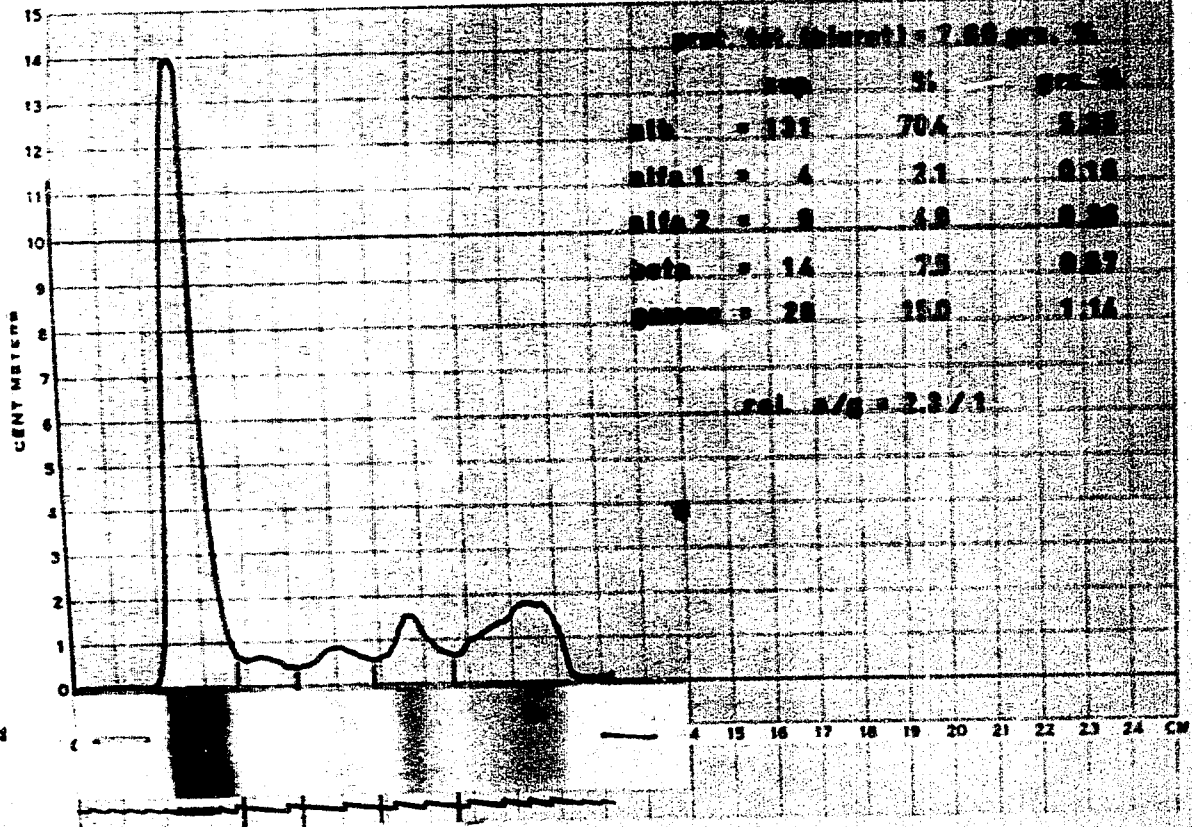


GRAFICA IV

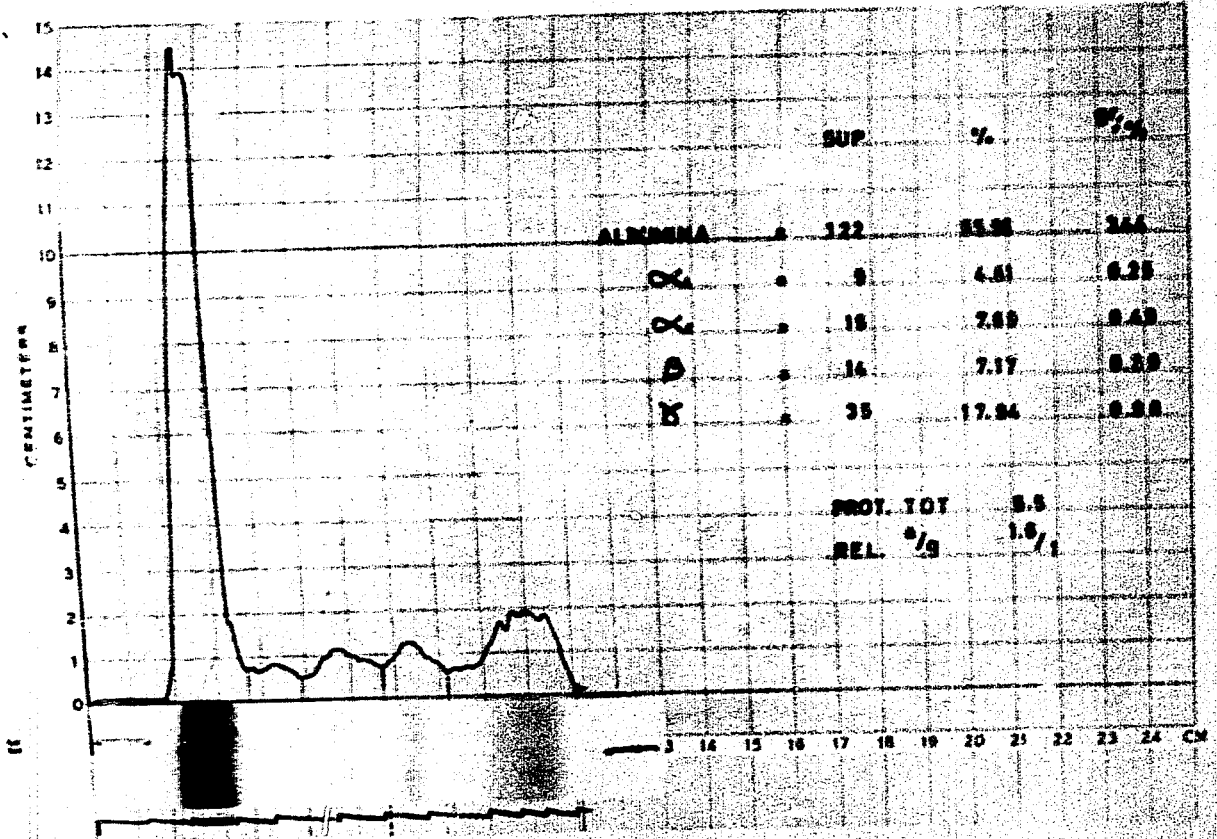
CONCENTRACION (GR/%) DE PROTEINAS SERICAS
EN PERSONAS NORMALES SANGRE MATERNA Y
SANGRE FETAL.



FILTER _____
 DATE _____
 TIME 7:11:02
 SAMPLE NORMAL (GRA. 0002)



PAPER NO. _____
 DATE OF TEST _____
 CASE NO. _____
 SAMPLE Sangre (total) (Rt. 2)



Las relaciones $\frac{F}{M}$ ($\frac{\text{Fetal}}{\text{Maternal}}$) de proteínas séricas son las siguientes:

	Rel F/M VALORES RELATIVOS	Rel F/M VALORES ABSOLUTOS
Albumina	1.26	1.11
α_1	0.72	0.63
α_2	0.55	0.50
β	0.42	0.38
γ	1.06	0.94
Prot. Tot.	-----	0.85

lo que pone de manifiesto una preponderancia tanto absoluta como relativa de albúmina en la sangre fetal, en tanto que las proteínas totales son bajas en sangre fetal y las gama aproximadamente iguales en los dos grupos.

ESTADÍSTICA.

Los cálculos estadísticos se hicieron de acuerdo con las siguientes fórmulas (25):

$$X = \frac{\sum X_i}{n} \qquad \text{D.S.} = \frac{\sqrt{\sum (X-X_i)^2}}{n-1}$$

$$\text{E.T.} = \frac{\sqrt{\sum (X-X_i)^2}}{n(n-1)}$$

X = media

X_i = valor individual

n = número de casos

D.S. = desviación standard

E.T. = error tipo.

C A P I T U L O V

CONCLUSIONES.

CONCLUSIONES.

En nuestro estudio se logró demostrar una disminución en la cantidad de albúmina, en sangre materna, durante el tercer trimestre del embarazo. Este dato está de acuerdo con informes anteriores(26). Durante el embarazo la albúmina sérica decrece aproximadamente 0.8 a 1.0 gramo, especialmente en el tercer trimestre, parte de esta baja se debe a la deficiencia proteíca relacionada con el desarrollo del feto. Pero el factor principal es aparentemente la hidremia ya que pocos días después del parto, al reajustarse los tejidos, el nivel de albúmina generalmente retorna a la normalidad.

La cantidad total de proteínas maternas sólo es un 10% menor que el grupo control. Un aumento en la fracción α_1 globulínica no se demostró. Esto se explica por el hecho de que la presente serie sólo se estudió en el grupo al final de la segunda mitad del embarazo y se acepta que las alteraciones tienen lugar en el primer trimestre después del cual los valores permanecen constantes.

En la serie de niños estudiados la concentración total de proteínas no alcanza el nivel materno. Las α_1 globulinas permanecen casi inalteradas a través de la vida fetal, 4.09% y muy próximas al mismo nivel porcentual que en el grupo normal. En tanto que Moore(27) encontró valores relativos cons-

tantamente bajos en fetos.

La concentración de γ globulina fetal aumenta a medida que progresa la gestación y llega a rebasar la cifra materna relativamente. Lo que también está acorde con el dato de Moore.

Varios autores como Maneschi y Lucarelli⁽²⁸⁾ han tomado el valor elevado de γ globulina fetal con soporte de la hipótesis de una síntesis fetal de proteína independiente.

Actualmente Klaus Jensen⁽²⁹⁾ ha demostrado que el título de aglutinación estafilocócica, en suero materno, cae violentamente al momento del parto. Investigaciones han demostrado que los títulos fetales son más altos que los maternos. Jensen explica esto basado en que no existe tiempo suficiente para que se equilibren durante la caída rápida en el título materno y opina que esta baja se debe, en parte, a la excreción de anticuerpos con el calostro y a la reducida formación de anticuerpos debida a la hipofunción de la corteza adrenal. Puesto que los anticuerpos son γ globulinas es natural esperar la correspondiente baja en la fracción γ globulínica durante el parto.

Los valores absolutos y relativos de albúmina, en niños nacidos a término, son superiores a los de la madre y a los de los adultos normales. Esto puede indicar una síntesis endógena de esta fracción en el feto. Esta hipótesis puede apoyarse también en el hecho de que el hígado, fuente importante de albúmina, es relativamente más grande en el feto y recién nacidos que en los adultos.

La elevación de α y β globulinas en el suero materno y la disminución de albúmina durante el embarazo sugiere que si cualquier proteína sérica cruza de la sangre materna a la fetal, la placenta debe tener un papel activo en seleccionar los componentes transferidos ya que no hay paralelismo entre las variaciones que tienen lugar en los dos sueros.

C A P I T U L O VI

S U M A R I O.

S U M A R I O :

- a).- Se estudiaron, por electroforesis en papel, el suero de mujeres con embarazo normal a término y el suero obtenido de sangre de cordón umbilical tomada simultáneamente.
- b).- Se observó una elevación absoluta de β globulinas y disminución de albúmina en sangre materna. Las otras fracciones, así como las proteínas totales, muestran pocas variaciones.
- c).- En valores absolutos, la sangre fetal muestra valores más bajos que la sangre materna, excepto para la albúmina.
- d).- Los datos obtenidos se relacionan con el grupo normal.
- e).- Se establecen los valores normales para los dos grupos estudiados y se analizan estadísticamente.
- f).- Se discuten los resultados en relación con el grupo normal.
- E).- Se valora el método electroforético para análisis de proteínas séricas.

C A P I T U L O VII

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

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

- 1) Pless E.D., Matthew C.W.- "Placental Transmission" IV. The protein fractions in fetal and maternal plasma.-Am.J. Obst. and Gynec. 847, 12, 1926.
- 2) Repoport M. Rubin M.I., and Chaffec.-"Fractionation of the serum and plasma proteins by salt precipitation in infants and children".- I.- The changes with maturity and age.- J. Clin. Invest. 467,22,1936.
- 3) Longsworth L.G., Curtis R.M., Pembroke R.M.- "The electrophoretic -- analysis of maternal and fetal plasmas and sera".- J.-Clin.Invest. - 24, 46, 1945.
- 4) Brown T.- J.Obst. Gynaecol. Brit. Empire. 781,41,1954. Citado por -- (14).
- 5) Köning P.- "Actas e trabalhos do terceiro congresso Sul-Americano de Quimica".- Rio de Janeiro 2, 334, 1937.
- 6) Klobusitzky V.D., Köning P.,- "Biochemische studien überdiegifte der Schlangengattung Bothrops".- Naunyn. Schmiederbergs Arch. Exp. Pa-- thol. Pharmokol. 19, 271, 1939.
- 7) E.L. Durrum. "A microelectrophoretic and microionophoretic technique" J. Amer. Soc. 72, 2943, 1950.
- 8) Hugh J. Mc Donald, Matthew C. Urbin, and Martin B. Williamson. "Measurement of ion migration on paper in an electric field. Transference numbers of nickel and copper sulfates". Science ii2, 227, 1950.
- 9) D. Cremer y A. Tisellus.- Biochem Z. 320, 273, 1950. Citado por ---- (12).

- 10) Kurt A. Kraus, Gilbert W. Smith. "Electromigration on filter paper" J. Amer. Chem. Soc. 72, 4329, 1950.
- 11) W. Grassman y K. Manning.- Naturwiss 37, 93, 1950. citado por (12).
- 12) Milan Bier.- "Electrophoresis, theory, methods and applications".- Pág. 181 Elsevier 1959.
- 13) Florkin M. Stotz E.H. "Comprehensive Biochemistry". Vol 7, pág.108, Elsevier 1963.
- 14) Ribeiro L.P., Miditieri E. Affonso R., "Paper electrophoresis". pág. 20, Elsevier Publishing Company 1961.
- 15) Wunderly Ch.- "La electroforésis en papel".- pág. 17, 2o. edición,- Madrid 1960.
- 16) R. Block, E.L. Durrum, G. Zweig.- "Paper Chromatography and paper - electrophoresis".- 2o. edición, Academic. Press. N.Y. 1958.
- 17) Theodore Peters Jr. and Christian B. Anfisen.- "Net production of - serum albumin by liver slices". J. Biol. Chem. 186, 805, 1950.
- 18) L.L. Miller, C.G. Bly, M.L. Watson, and W.F. Bale. "The dominant -- role of the liver in plasma protein synthesis". J. Exptl. Med. 94,- 431, 1951.
- 19) P.H. Campbell and Nancy E. Stone.- "The synthesis of serum albumin- and tissue proteins in slices of rat liver and liver tumour".- Biochem. J. 66, 19, 1957.
- 20) Longworth.- Chem. Revs. 30, 323, 1942. Citado por (12).
- 21) Gornall, A.G., Bardawill C.J. and David M.M. Determination of serum protein by means of the Biuret Reaction". J. Biol. Chem. 177, 751, 1949.
- 22) Paper electrophoresis system. Instruction Manual. Beckman Spinco -- Division RIM-5.
- 23) Matsumoto C.F.- "Fraccionamiento electroforético en pacientes emba- razadas normales, pre-eclámpticas y eclámpticas". México 1963. Te- sis.
- 24) Sunderman F.W., F.W. Sunderman Jr.- "Aplicaciones clínicas del --- fraccionamiento de sero proteínas por electroforésis en papel".- -- Am. J. of Clin. Path. 27, 2, Feb. 1957.
- 25) Bradford Hill.- "Principles of medical statistics". The Lancet Li- mited, London 1961.
- 26) Kuhns W.J. and P.J. Hyland - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 92, 1, -- 1956.

- 27) Moore D.H., Du Pan R.M. and Buxton C.J. - "An electrophoretic study of maternal, fetal and infant sera". *Am. J. Obst. and Gynec.* 57, 312, 1949.
- 28) Maneschi R., Lucarelli B. - "Blood proteins in the fetus at term and relation to those of the mother". *Minerva, Ginec.* 9, 508, 1957.
- 29) Jensen K. "Undersogelser over stafylococcarnes antigens Trektur Munkgaard". Copenhagen 1959. Thesis.