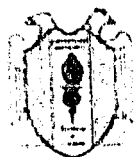


UNIVERSIDAD MOTOLINIA
INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



ESTUDIO ELECTROFORETICO COMPARATIVO ENTRE
PROTEINAS DEL LIQUIDO AMNIOTICO, SUERO
MATERNO Y SUERO FETAL

T E S I S
QUE PARA OBTENER
EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MARIA EUGENIA CUCURACHI HERNANDEZ



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.

PRESIDENTE: Q.F.B. GUADALUPE ALONSO DE B.

VOCAL: Q.F.B. GUADALUPE CAMARENA T.

JURADO ASIGNADO -
ORIGINALMENTE SE-
GUN EL TEMA.

SECRETARIO: Q.F.B. JAIME MONTIEL

1er. SUPLENTE: Q.F.B. ROSA MARTHA GONZALEZ M.

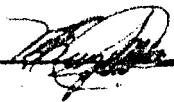
2do. SUPLENTE: Q.F.B. ROSAURA LUGO A.

SITIO DONDE SE DESARROLLO EL TEMA:

LABORATORIO DE PRUEBAS ESPECIALES DEL I.S.S.S.T.E.

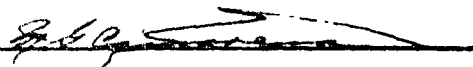
NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUSTENTANTE:

MA. EUGENIA CUCURACHI HERNANDEZ.



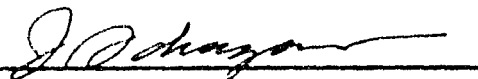
NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B. MA. GUADALUPE CAMARENA TORRES.



NOMBRE COMPLETO Y FIRMA DEL SUPERVISOR TECNICO:

DRA. JOSEFINA M. DE SCHAGAR.



A mis Padres
Con devoción y gratitud.

Carifosamente a mis Hermanos.

A Raúl con todo mi cariño.

A mis familiares.

Como muestra de mi sincera gratitud
al Dr. Carlos Valverde R. por su de-
sinteresada ayuda y orientación en la
realización de esta tesis.

A la Dra. Josefina M. de Shagar
y al Dr. Eduardo Lowemberg F.
por su valiosa ayuda.

Hago patente mi agradecimiento al
Laboratorio de Pruebas Especiales
del I.S.S.S.T.E. por permitir el
desarrollo de esta tesis.

CONTENIDO

INTRODUCCION

CAPITULO I

ANTECEDENTES.

CAPITULO II

MATERIAL Y METODO.

CAPITULO III

RESULTADOS.

CAPITULO IV

DISCUSION Y COMENTARIOS.

CAPITULO V

RESUMEN Y CONCLUSIONES.

BIBLIOGRAFIA.

INTRODUCCION

El estudio del Líquido Amniótico desde el punto de vista inmunobioquímico ha cobrado en los últimos años gran importancia y constituye en la actualidad, un valioso parámetro mediante el cual el médico puede conocer y valorar ciertos estados de patología materno-fetal.

En lo que a origen y fisiología del Líquido amniótico se refiere, los conocimientos son fragmentarios y las hipótesis numerosas. Respecto a su origen, se considera que es un dializado de la sangre materna (1), se ha sugerido también que es un producto de secreción del epitelio amniótico (2), y algunos autores plantean la posibilidad de que tenga ambos orígenes. Respecto a su fisiología, clásicamente se ha considerado que desempeña el papel de amortiguador o cojín protector, que es un medio en el cual el feto puede moverse con facilidad y que le ayuda por otra parte a mantener una temperatura más o menos constante. Sin embargo, los estudios sobre su composición y lo que podría llamarse "Metabolismo del Líquido Amniótico", han aportado datos que dan base para suponer que posea otro tipo de funciones.

En relación a este último punto, se ha demostrado que efectivamente el Líquido Amniótico, no es un medio estático, ya que está siendo renovado continuamente y con sorprendente rapidéz (3). Se ha demostrado, que aproximadamen

te el 35.4% del agua del Líquido Amniótico es reemplazada cada hora; este hecho indica que cada 2.9 horas el agua total del Líquido Amniótico es recambiada totalmente y si se recuerda que en promedio la cantidad de Líquido varía de 500 a 1000 c.c., (aunque se considera como normal la cantidad de 2500 c.c.), el metabolismo y la velocidad con que se efectúa el proceso resultan sorprendentes (4).

Este estado sumamente activo de flujo y reflujo, constituye por sí so lo un hecho que señala la importancia de conocer las concentraciones de diversas substancias y elementos químicos en el Líquido Amniótico, e intentar correlacionar los hallazgos con la fisiología normal y/o patológica de la unidad materno-fetal. - Los estudios señalados sobre el particular han permitido conocer las concentraciones amnióticas de: proteínas (530 mg.), nitrógeno no proteico (24 mg.), ácido úrico - (45 mg.), azúcar (11mg.), calcio (5 mg.), fósforo (3 mg.), etc. (5), así como, - de las sustancias orgánicas, fructuosa, ácido láctico, adrenalina, ácido cítrico, - diastasa, lipasa, pepsina, y renina, impulsando a la vez la investigación y evaluación de las posibles ventajas diagnósticas que pudiera tener el estudio bioquímico - del Líquido Amniótico (6).

Con esta finalidad, se ha realizado en los últimos años la determinación y cuantificación de bilirubinas en el Líquido Amniótico, intentando llegar a establecer el diagnóstico precoz de eritoblastosis Fetal (7).

En esta tesis, se ha realizado un estudio comparativo entre el contenido proteico y sus diversas fracciones en suero materno, Líquido Amniótico y suero fetal, con el objeto fundamental de aportar datos que permitan conceder el Líquido

do Amniótico, algún papel en la fisiología normal de la unidad feto-materna, enfocándose especial atención a la posibilidad de que el Líquido Amniótico pueda ser fuente de Gamma Globulina y/o de proteínas en general, así como que pueda reflejar el estado nutricional y en consecuencia el grado de desarrollo y maduración fetal.

ANTECEDENTES

Si desde un punto de vista general, en relación a estructura y fisiología celular puede considerarse a los carbohidratos y lípidos como el combustible del horno metabólico, las proteínas representan el grupo de sustancias químicas de mayor importancia biológica, ya que además de formar el armazón estructural, constituyen los engranajes y palancas de la maquinaria celular.

Estructuralmente, las proteínas forman la masa principal de las células y de todos los tejidos animales como músculo, vísceras y aún estructuras en que la parte proteica es menos ostensible como en el hueso (11, 12). Estos compuestos de peso molecular elevado, consisten principalmente o por completo de cadenas de alfa aminoácidos unidos por enlaces peptídicos y aparte de llenar funciones estructurales y formar la masa protoplasmática, intervienen en las siguientes funciones:

- a).- La reproducción celular y el traspaso de las características hereditarias.
- b).- La actividad enzimática de todo el proceso metabólico celular.
- c).- En los mamíferos el transporte de oxígeno.
- d).- Algunas hormonas especialmente hipofisiarias son proteínas y en la actualidad, conocemos las importantes acciones tróficas que ejercen al nivel celular.

e).- Los anticuerpos pertenecen al grupo de proteínas plasmáticas - llamadas globulina.

f).- Las proteínas contráctiles que tienen la propiedad de acortarse o alargarse como la miosina de los músculos (13).

Actualmente, se han aislado gran número de aminoácido que tienen en el mismo carbono (el primero de su cadena, un grupo amino y otro carboxilo). - De estos se considera que intervienen en la formación estructural de las proteínas, - aproximadamente veinte, por lo cual resulta que la probabilidad de combinaciones es prácticamente infinita (14). Esta propiedad de formar especies químicas distintas de acuerdo a la secuencia en que se dispongan los aminoácidos, así como la capacidad de formar macromoléculas, confiere a las proteínas, propiedades de gran importancia de entre las cuales es importante señalar las siguientes: Dependiendo del tamaño que alcance la molécula proteica puede quedar colocada dentro de los límites del estado coloidal; esta característica guarda relación con la facilidad o dificultad de la molécula a cruzar membranas, en general se puede decir que las proteínas no atraviesan las membranas. En razón a su peso molecular es posible sedimentarlas en un campo gravitacional elevado, como el producido por la ultracentrifuga; las proteínas son susceptibles a la deshidratación y a la acción de cargas eléctricas pudiendo pasar del estado de solución al de precipitación o viceversa, tal como sucede con cualquier coloide. Estas propiedades como se mencionará más adelante, han permitido la separación, estudio y clasificación de este importante grupo de sustancias químicas (15).

La clasificación de las proteínas basada fundamentalmente en sus propiedades físicas y en sus características de composición, puede resumirse en términos generales en tres grupos principales:

- 1).- Proteínas simples, que sólo contienen alfa aminoácidos o sus derivados, y que existen como tales en la naturaleza,
- 2).- Proteínas conjugadas, aquellas que al ser sujetas a hidrólisis liberan tanto alfa aminoácidos como otras sustancias.
- 3).- Proteínas derivadas, que representan los productos resultantes de la degradación de los dos grupos anteriores.

En el siguiente cuadro, se encuentra esta clasificación y sus subdivisiones más importantes (15, 16).

- 1.- Proteínas simples.
 - a).- Albúminas
 - b).- Globulinas
 - c).- Glutelinas
 - d).- Prolaminas
 - e).- Escleroproteínas.
- 2.- Proteínas Conjugadas.
 - a).- Nucleoproteínas.
 - b).- Fosfoproteínas.
 - c).- Porphirinoproteínas.

- 1.- Hemoporfirinas
- 2.- Clorofiloproteínas.

- d).- Glucoproteínas
- e).- Lipoproteínas
- f).- Flavoproteínas
- g).- Metaloproteínas diversas.

3.- Proteínas Derivadas:

- a).- Productos del desdoblamiento de proteínas conjugadas.
 - 1.- Protaminas
 - 2.- Histonas
 - 3.- Otros compuestos
- b).- Proteínas desnaturalizadas.
- c).- Productos de hidrólisis
 - 1.- Pepsinas y Peptonas
 - 2.- Péptidos.

Dentro del grupo de las proteínas simples, existen los tipos y fracciones de mayor interés en medicina ya que participan activamente en numerosas funciones orgánicas. La facilidad con que es posible obtener una muestra de sangre y separar los glóbulos rojos teniendo así el plasma, ha permitido hacer amplios estudios sobre las proteínas plasmáticas y ha contribuido ampliamente a la clínica médica - en general.

Al realizar el fraccionamiento del plasma con un método burdo como es el de la precipitación con sales neutras, se distinguen dos grandes grupos de proteínas: ALBUMINAS Y GLOBULINAS (17). El advenimiento de técnicas más precisas como la ultracentrifugación, permitió reconocer diferentes subgrupos entre los

cuales destaca por su interés médico las alfa y beta lipoproteína. Finalmente la electroforesis método que será descrito en párrafos posteriores, ha permitido reconocer las alfa, beta, gamma globulinas, albúminas y fibrinógeno. En el suero humano normal, aproximadamente el sesenta por ciento de las proteínas totales está constituido por albúmina cuyo peso molecular es de 69,000 y su concentración es de 6×10^{-17} moléculas / ml.

La albúmina debido a su concentración molecular relativamente alta, tiene una importante función como reguladora de la presión osmótica. La albúmina, produce cerca del 75-80% del efecto osmótico de las proteínas totales ya que a pesar de su concentración mayor que las globulinas, tienen menor peso molecular que estas últimas.

La albúmina tiene un punto isoeléctrico de 4.9 o sea el más bajo de los elementos proteicos del plasma, esto además de su carga neta relativamente alta, explica porqué la migración electroforética de esta fracción es más rápida que la de los otros componentes en medio neutro o ligeramente alcalino.

La albúmina, fibrinógeno, protombina, y las alfa y beta globulina plasmáticas, son sintetizadas totalmente en el hígado en una proporción aproximada de 20 grm. diarios (18).

Las proteínas plasmáticas están en intercambio constante con las proteínas tisulares (16).

La gamma globulina se forma principalmente en las células plasmá-

ticas y parcialmente en el hígado y se almacenan en las células retículo endoteliales y linfocitarias.

Los estudios dinámicos sobre síntesis, almacenamiento, transporte y destrucción proteica, empleando aminoácidos marcados, han permitido reconocer la increíble velocidad de estos procesos. Como este punto no constituye el aspecto fundamental de la tesis, citaremos una excelente revisión al respecto, que puede ser consultada por el interesado (19).

Las proteínas plasmáticas desempeñan diversas funciones tales como (20).

- a).- Conservar la presión osmótica de la sangre, sobre todo como se diho en párrafos anteriores, por efecto de la albúmina.
- b).- Formar una reserva de proteínas para la regeneración y el crecimiento de los tejidos.
- c).- Actuar como amortiguador del pH (más que a proteínas plasmáticas este papel le corresponde a la hemoglobina).
- d).- Servir de transportadores, por ejemplo, para los lípidos y las sustancias liposolubles (bilirrubinas, vitaminas A, B y E, hormonas esteroideas), los metales (el hierro por la siderofilina, y el cobre por la ceruloplasmina), además --- cerca de la mitad del calcio sanguíneo está unido a proteínas. Los complejos alfa y beta globulinas, sirven en el transporte e intercambio de líquidos y sustancias liposolubles; gran cantidad de colesterol, fosfolípidos, ácidos grasos, y hormonas-

en su mayor parte no se encuentran libres y 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.

Una fracción de las beta globulinas (beta-2), forma las sustancias que dan las características a los distintos grupos sanguíneos en la especie humana: - O, A, B, AB. (Isoaglutininas).

Las alfa y beta globulinas están formadas por moléculas cuyo peso molecular oscila entre 90,000 y 1.000,000 (21, 22).

a).- Actuar como agentes inmunológicos, por ejemplo, las gamma globulinas contienen los anticuerpos contra los microbios patógenos. Esta fracción, está formada por moléculas alarga de peso molecular aproximado de 160,000 aunque se han identificado conjuntamente pequeñas cantidades de moléculas mayores. La gamma globulina humana tiene 10 a 15% de un componente de peso molecular igual a 1.000,000.

Por métodos recientes (Inmunolectroforesis), se ha podido aclarar que la gamma globulina no es homogénea, por tanto no es posible hablar de su punto isoeléctrico, sino más bien de un rango isoeléctrico que va de 6.3-7.3. Aproximadamente un 20% de las proteínas plasmáticas están constituidas por gamma globulinas (23).

f). - Suministrar los factores necesarios para la coagulación de la sangre, como fibrinógeno, protrombina, globulina, antihemofílica, factor V y VII, factor Christmas (PTC), antecedente tromboplástica (PTA), etc.

g). - Finalmente, representa las enzimas necesarias en la sangre. - Muchos de los factores de la coagulación funcionan como enzimas, además se encuentran en la sangre proteinasas, peptidasas, amilasas, fosfatasas ácida y alcalina, desoxirribonucleasa, histaminasa, colinesterasa, beta-glucouronidasa, transaminasa, deshidrogenasa, etc.

Todo lo señalado en párrafos anteriores, que pretende ser un resumen de los aspectos más relacionados al tema de esta tesis, señala en nuestro concepto - que el estudio bioquímico de las proteínas y sus diferentes fracciones, posee capital importancia y ha permitido conocer con mayor precisión diversos aspectos de la fisiología y fisiopatología humana.

En base a estudios realizados recientemente en relación al protidograma fetal (24), así como las determinaciones proteicas realizadas en líquido amniótico (25), se consideró importante realizar esta tesis.

En diversas publicaciones al compararse el protidograma sérico materno y fetal, se han señalado diferencias importantes, las cuales se han relacionado "a la madurez serológica del feto", y a aspectos tan importantes como la inmunología neonatal, la isoimmunización materno-fetal y los probables intercambios hormonarios entre madre-feto (26, 27). Los diversos valores reportados por diferentes in-

investigadores, no están del todo acordes, sin embargo, se puede decir que las proteínas séricas totales en la sangre fetal son más bajas que la del adulto normal, aun que la relación A/G varía poco en ambos casos. También se señala que durante las fases finales del embarazo se encuentra en la madre una elevación de la fracción globulínica y una disminución en la relación A/G (28).

Las determinaciones de proteínas en el líquido amniótico de mujeres normales a nuestro medio se han reportado semejantes a la de otros autores principalmente Europeos, por otra parte, los resultados obtenidos en embarazos patológicos no son concluyentes ni poseen significación estadística en relación directa a su escaso número; no obstante se señala la posibilidad de que en los embarazos patológicos, la permeabilidad placentaria se modifique importantemente.

Estos reportes fundamentan la investigación realizada en esta tesis que tiene la principal intención de conocer si existe o no relación fisiológica entre los protidogramas maternos, amnióticos y fetales.

CONCEPTO GENERAL SOBRE LA ELECTROFORESIS.

Influencia de la fuerza iónica y el pH de la solución.

Se entiende por electroforesis la migración que experimentan las partículas eléctricamente cargadas en una solución coloidal, bajo la influencia de un campo eléctrico (29).

Cuando una sustancia en solución tiene carga eléctrica, y se coloca en un sistema que tiene dos electrodos, la sustancia emigra hacia el electrodo

de carga opuesta a la que ella tiene. De este modo, las proteínas de carga negativa emigran hacia el ánodo y las proteínas de carga positiva emigran hacia el cátodo.

Teóricamente, el sitio en que las proteínas no emigran ni hacia un electrodo ni hacia otro (punto isoeléctrico), representa el estado en que las cargas eléctricas de las proteínas o no existen o están equilibradas por igual entre las positivas y las negativas (30). Por lo tanto, el pH de una solución es el factor determinante de la carga neta de las proteínas, y determinará por la neutralización de los grupos carboxilo (COO^-), o amino (NH_3^+), si la proteína queda cargada positiva o negativamente.

Las proteínas en solución tienen un comportamiento anfótero, debido a los grupos químicos mencionados. es decir según el pH del medio en que se encuentran se comportan como ácidos o álcalis. Así cuando la concentración de iones hidrógeno del medio aumenta, las proteínas se comportan como bases y actúan como aceptadores de protones (iones H^+), adquiriendo carga positiva.

En cambio, cuando la concentración de iones hidrógeno disminuye del medio, las proteínas se comportan como ácidos, y ceden protones al medio, adquiriendo carga negativa, o mejor dicho perdiendo cargas positivas.

De un modo general, este es el mecanismo aplicado en la separación de las proteínas. Las mejores separaciones se logran con soluciones amortiguadoras de pH entre 8 y 9, siendo el pH ideal de 8.6 (31).

TIPOS DE ELECTROFORESIS:

Existen dos tipos de electroforesis:

1).- Electroforesis libre.

2).- Electroforesis de "zona". Siendo este último una modalidad del tipo libre.

En la electroforesis tipo libre, las partículas coloidales (proteínas), se encuentran en un medio dispersante (solución amortiguadora). Este método ideado por Tiselius (32), se describe como "el método clásico o de los límites-móviles".

Consiste en un tubo en forma de "U", de paredes de vidrio, en el cual se coloca la solución en estudio, que en este caso son las proteínas; encima de las cuales se coloca una solución amortiguadora a un pH determinado, procurando que el límite entre ambos sea nítido.

El experimento se lleva a cabo a bajas temperaturas (0 grados centígrados) para evitar perturbar la movilidad de las proteínas.

En cada una de las ramas del tubo, y dentro de la solución amortiguadora se introducen los electrodos haciendo pasar una carga eléctrica por un tiempo determinado, observándose posteriormente una separación en franjas de fracciones protéicas.

El aparato de electroforesis no proporciona datos cuantitativos absolutos sobre la concentración o la cantidad total de proteínas en una solución. Para tal fin, es preciso determinar las proteínas con uno de los métodos con-

vencionales, como el de Kjeldahl.

El aparato de electroforésis puede determinar sólo la proporcionalidad de cada una de las fracciones comprendidas en la totalidad de la solución.

Estandarizando el método, se separan como mínimo las siguientes fracciones en el siguiente orden:

- 1.- Albúminas.
- 2.- Globulinas Alfa 1.
- 3.- Globulinas Alfa 2.
- 4.- Globulinas Beta.
- 5.- Globulinas Gamma.

Los valores porcentuales considerados como normales son respectivamente: 56-62, 4-7.9, 7.9-11, 11-15, y 12-16 (33).

Aunque por mucho tiempo el procedimiento de electroforésis libre o de "frontera", ha sido el más usado para determinar la movilidad de las proteínas, en los últimos años han demostrado su utilidad otras modalidades de este procedimiento, las que describiremos a continuación.

ELÉCTROFORESIS DE ZONA:

Es la migración de partículas eléctricamente cargadas, estabilizadas por un soporte que inmoviliza el medio. Esto tiene la ventaja de evitar las corrientes de convección y fijan las fracciones separadas lo que permite -- trabajar con ellas de una manera sencilla y a bajo costo (29,30). Los medios

sólidos de soporte que se han utilizado, han sido muy variables: papel en celulo (Kilting 1957) (24), almidón en celulo, azúcar, fibras de celulosa, gel de sílice, gel de agar, etc.

Sin embargo, la electroforesis en papel es el método que ha alcanzado mayor difusión (25). Es decir, la fase de sustrato en este caso es el papel filtro.

Permitiendo la migración electroforética sobre el papel filtro, además de evitar las corrientes de convección como ya dijimos, evitamos la llamada anomalía Beta.

Consiste fundamentalmente en la colocación de tiras de papel de determinadas características de fuerza capilar, porosidad y textura, en una solución electrolítica, en la cual se encuentran los electrodos de platino (26).

Las soluciones electrolíticas usadas son el ácido dietilbarbitúrico y el barbiturato de sodio, que mezclados proporcionan un pH de 8,6. La cantidad de muestra que se requiere es mínima (0,02 ml. cuando se trata de suero), sin embargo se obtienen datos cuantitativos bastante prácticos. Se coloca la muestra en el medio de sostén aplicando la corriente eléctrica a un voltaje constante y por un tiempo determinado.

Posteriormente se tñen las fracciones separadas con colorantes como el de bromofenol, negro anilina B, o negro metileno, la cresolftaleína B, etc. cuando se trata de proteínas totales.

ELECTROSMOSIS Y EVAPORACION:

Además del voltaje e intensidad, las sustancias emigrantes quedan bajo el efecto de una fuerza electrosmótica o puesta. 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 amortiguadora. 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 representa por lo tanto, una corriente en dirección al cátodo. Este fenómeno se evita aumentando la fuerza iónica del amortiguador.

Pueden existir otros elementos que influyen en el movimiento de la solución, por ejemplo: puede suceder que por ser diferentes los niveles de la solución amortiguadora se presente un efecto de sifón, entonces deben igualarse los niveles.

Puede presentarse un fenómeno de evaporación de la solución, debido al calor producido por la circulación de la corriente. El calor crece con 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 electroforésis.- Esto se favorece disminuyendo la evaporación, para lo cual puede usarse glice-

rina o alcohol propílico al 5-15% mezclado con la solución amortiguadora (29). 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 del calor.

Usando como solución amortiguadora barbital con pH 8.6 y fuerza iónica de 0.075 a 0.1, se separan las siguientes fracciones: albúmina (que posee mayor velocidad de migración) y las globulinas alfa 1, alfa 2, beta y - gamma. Cambiando el pH, se obtienen hasta ocho fracciones que se superponen a las Alfa, Beta y Gamma globulina (37).

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL:

Se estudiaron un total de 29 mujeres cuyo embarazo había tenido una evolución normal y con una duración que varió de 38 a 41 semanas. Sus edades fluctuaron entre los 18 y 38 años con una media de 24 años (ver tabla número 1). Como se observará la mayoría de ellas son madres multíparas.

El trabajo de parto fué normal, así como el producto, descartándose todos aquellos casos en los que se había presentado alguna distosia o sufrimiento fetal.

En cada uno de los casos se procedió de la siguiente manera:

a).- Recolección de 10 a 15 c.c. de Líquido Amniótico por pun
ción, una vez que se había iniciado el trabajo de parto efectivo.

Únicamente las muestras sin contaminación con sangre y sin hemó-
lisis fueron incluidas en nuestro estudio.

b).- Toma de 5 a 10 c.c. de sangre materna por punción venosa,
inmediatamente después de terminado el trabajo de parto.

c).- Toma de 5 a 10 c.c. de sangre del cordón umbilical del re
cien nacido inmediatamente después de terminado el trabajo de parto.

Únicamente los sueros de sangre no hemolizada se incluyeron en-

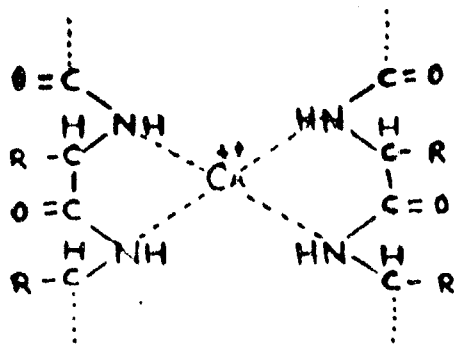
nuestro estudio.

Merece especial mención la desinteresada ayuda brindada por el personal de la Sección de Gineco-Obstetricia del Centro Hospitalario "20 de Noviembre", sitio en el cual fueron atendidas las 29 madres de este estudio.

A las dos muestras sanguíneas de cada caso en estudio, es decir la sangre materna y la sangre del recién nacido se les centrifugó a 1500 R.P.M. en un lapso no mayor de 24 horas después de obtenidas. Una conducta semejante se observó con las muestras de Líquido Amniótico las cuales se centrifugaron a 2500 R.P.M.

Una vez separados los sueros en los casos de las muestras sanguíneas y al Líquido Amniótico centrifugado, se procedió a determinarles proteínas totales por el Método de Biuret (8). Este método tiene como fundamento lo siguiente:

Cualquiera que sea la naturaleza de los aminoácidos que constituyen a las proteínas, éstas contienen el enlace peptídico ($-C-NH-$). Puesto que este enlace peptídico se combina con el ión Cu en las soluciones alcalinas fuertes, dando un complejo de color púrpura, la intensidad del color producido es proporcional al número de enlaces peptídicos y por lo tanto a la cantidad de proteínas.



El nombre de Biuret proviene de un compuesto sencillo que da esta reacción y cuya estructura molecular es semejante a la de un depéptido. -- Cualquier péptido, aún cuando contenga sólo dos ácidos aminados, da la reacción, pero en el suero o en el plasma la cantidad de péptidos libres es desde ñable en comparación con la de proteínas.

Los pasos seguidos en esta técnica fueron:

- a).- En un tubo de ensaye se pusieron 1.9 ml. de cloruro de sodio al .9% y .1 ml. de suero problema o de líquido Amniótico.
- b).- En un segundo tubo que serviría de blanco de reactivos se pusieron dos ml. de cloruro de sodio al .9%.
- c).- Se les añadió a cada tubo 8 ml. del reactivo de Biuret, y se mezcló por inversión.
- d).- Se dejaron reposar ambos tubos durante 30 minutos.
- e).- Pasado este tiempo se procedió a su determinación, leyendo el tanto por ciento de Transmítancia en el Fotocolorímetro Coleman Jr. Modelo G-A, a una longitud de onda de 550 milimicrones; (ajustando con el blan

co de reactivos a 100% de T.) la lectura obtenida se transfiere a la curva de calibración para obtener los gramos de proteína por ciento de la muestra.

Posteriormente se realizó el fraccionamiento electroforético de -- acuerdo con la Técnica de Durum (9).

Es importante señalar que las muestras fueron procesadas por casos, es decir, que cada caso estaba integrado por suero materno su respectivo suero infantil y Líquido Amniótico.

METODO ELECTROFORETICO:

El equipo constó de:

- a).- Celda electroforética de Durum Spinco-Duostat, modelo R, - Serie d y accesorios.
- b).- Regulador de Voltaje Spinco-Duostat.
- c).- Integrador Spinco-Analytrol RB.
- d).- Micropipetas Spinco-Part. 300-816, graduadas a 0.006- -- .008 ml.

MATERIAL EMPLEADO PARA ELECTROFORESIS:

- a).- Tiras de papel filtro No. 320046 (S and S, 2043 A mgf.), - Beckman, de 31.6 x 5.1 cm.
- b).- Solución amortiguadora de fuerza iónica 0.075 y pH de 8.6; disolver 2.76 gr. de ácido dietil barbitárico y 15.40 gr. de barbitol sódico en agua destilada, ajustar a 1,000 ml.

c).- Solución de Azul de Bromofenol; disolver 1 gr. del colorante en metanol Q.P. y aforar a 1,000 c.c.

d).- Metanol Q.P.

e).- Solución de Acido Acético Glacial al 15%.

TECNICA

(METODO DE DURRUM).

a).- Fraccionamiento Electroforético

b).- Coloración

c).- Valoración

FRACCIONAMIENTO ELECTROFORÉTICO:

La celda de Durrum consiste, en un recipiente cuadrangular de plástico acrílico formando dos compartimientos independientes en donde se coloca la solución amortiguadora. En cada compartimiento, 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 porción superior lo cual facilita la introducción de la micropipeta empleada en la aplicación de la muestra. Se vierte la solución amortiguadora en dichos compartimientos, se igualan los volúmenes y se colocan las tiras en contacto directo con la solución amortiguadora a través de dos tiras de papel filtro Beckman No. 320046 (5 and 5 2042 A.), que están 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 en la solución amortiguadora, deben permanecer durante quince minutos en la celda cerrada con el objeto de eliminar el exceso de líquido y saturar de vapor la cámara.

Se aplica la muestra en estudio (0.006 ml.), dejándose correr durante 16 horas a 2.5 voltios con una intensidad constante de 15 MA. (Variación máxima de intensidad de 2%).

COLORACION:

Este procedimiento consta de cinco fases:

- a).- Introducir las tiras al horno y secar a 120-130 grados centígrados durante 30 minutos, con objeto de desnaturalizar las proteínas.
- b).- Después se pasan a un baño de Metanol Q.P. durante seis minutos.
- c).- Someter las tiras a un baño de colorante de Azul de Bromofenol por treinta minutos, y dar tres baños sucesivos en solución de ácido acético glacial, al 5% con duración de cinco minutos en cada uno.
- d).- Secar las tiras nuevamente en horno a 130 grados centígrados durante quince minutos.
- e).- Someter las tiras posteriormente a vapores de anilina por un tiempo mínimo de quince minutos, para revelar las fracciones obtenidas, y proceder inmediatamente a la coloración.

VALORACION:

Se llevó a cabo por fotometría directa en el equipo Analytrol calibrado con abertura de 1 ml. (Slit 11, filtro B2), Beckman-Spinco Division - RIM-5 (10).

TABLA I

No. de caso	DATOS MATERNOS			DATOS DEL RECIEN NACIDO		
	Semanas de embarazo	Edad	Gesta	Para	Sexo	Peso en gr.
1	39	26	III	II	F	3,050
2	38	32	VI	V	M	3,400
3	38	21	VI	III	M	3,100
4	40	25	II	II	F	3,250
5	40	28	III	II	F	3,060
6	40	31	IV	IV	M	3,800
7	40	33	V	IV	M	3,100
8	40	35	VI	III	M	3,200
9	39	28	IV	IV	M	3,340
10	39	23	II	II	F	3,500
11	40	32	VI	IV	F	3,100
12	40	22	II	I	F	2,900
13	40	34	VI	IV	F	3,450
14	38	38	X	IX	F	3,300
15	40	32	VI	V	M	3,800
16	41	35	VIII	VII	M	3,200
17	40	22	III	III	F	3,500
18	40	24	II	I	F	2,850

No. de caso	DATOS MATERNOS			DATOS DEL RECIEN NACIDO		
	Semanas de embarazo.	Edad	Gesta	Para	Sexo	Peso en gr.
19	39	31	VI	V	M	3,100
20	40	24	III	I	F	2,760
21	40	36	VII	VI	F	3,300
22	40	20	II	II	M	3,500
23	39	24	I	I	F	3,400
24	40	38	VII	VII	M	3,700
25	40	21	II	II	M	3,120
26	40	23	I	I	M	4,700
27	40	29	V	V	M	3,140
28	38	35	VII	VII	F	2,400
29	40	18	I	I	F	3,600
MEDIAS	39	24	IV	III	F M	3,297
					15 14	

RESULTADOS.

Con el propósito de hacer más clara la exposición y posteriormente la discusión de los resultados obtenidos en este estudio, éstos se analizarán por grupos: Sueros Maternos, Sueros de los Recién Nacidos y Líquidos Amnióticos; aclarando que el orden observado en cada uno de los cuadros a que se hará mención fué siempre el mismo, es decir, el caso No. 1 del Suero Materno corresponde al caso No. 1 del Suero del Recién Nacido y al caso No. 1 del Líquido Amniótico.

En el cuadro No. 1 aparecen los valores absolutos de proteínas - totales considerados en la práctica médica como normales.

CUADRO No. 1

Proteínas Totales	Albúminas	Alfa 1 Glob.	Alfa 2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.
6.00-8.00	3.24-4.32	.36-.48	.54-.72	.78-1.04	1.08-1.44

SUEROS MATERNOS:

En términos generales, como puede apreciarse en el Cuadro No. 2 los valores absolutos de proteínas y sus fracciones en los Sueros Maternos se encuentra dentro de los límites normales. Sin embargo se observa cierta ten-

dencia a presentar un aumento de la fracción Beta Globulina, fenómeno que - por otra parte se ha sido observado por otros autores (38).

SUEROS INFANTILES:

En relación a los resultados obtenidos en este grupo, es importante señalar que en diez casos (como puede observarse en el Cuadro No. 3), la fracción albúmina se encuentra por encima de los valores normales y del valor-medio obtenido en el grupo de los Sueros Maternos. El resto de las fracciones protéicas se encuentran en el límite inferior de lo normal, o bien, por abajo de éste. En este mismo sentido se puede observar que de los diez casos que presentan valores elevados de la fracción albúmina, en ocho de ellos el peso al nacer, excede del promedio del grupo total y en todos los casos, las madres son multíparas.

Llama la atención que catorce sobre veintinueve de los casos o sea el 48.2%, presentan valores de Gamma Globulina por abajo de la unidad y en consecuencia por abajo de los valores normales.

LIQUIDO AMNIOTICO:

Desde el punto de vista de valores absolutos, los valores del Líquido Amniótico que se encuentran en el Cuadro No. 4 no son comparables al resto de los resultados; sin embargo como se verá más adelante en la discusión, los valores porcentuales obtenidos son en nuestro concepto de gran interés.

No obstante llama la atención que los valores de albúmina que se

encontrar por arriba de promedio, corresponden en algunos casos a los Sueños infantiles que presentan un fenómeno semejante, el cual por otra parte parece guardar relación con el peso corporal al nacer.

Los cálculos estadísticos se realizaron de acuerdo con las siguientes fórmulas (29):

$$x_{\bar{}} = \frac{\sum x}{n}$$

D. E. (Derivación Estándar)

$x_{\bar{}}$.- medio aritmético

x_i .- valor individual

n .- número de valores.

\sum .- Promedio aritmético de los cuadrados de las diferencias entre x_i (valor individual), y $x_{\bar{}}$ (media aritmética).

$\sum x$.- Suma de valores.

$$D. E. = \sqrt{\frac{\sum (x - x_{\bar{}})^2}{N-1}}$$

CUADRO No. 2

VALORES ABSOLUTOS g/100 ml. SUEROS MATERNOS.

No. de Casos	Albuminas	Alfa 1 Glob.	Alfa 2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.
1	3.14	.407	.600	1.06	.975
2	3.60	.236	.525	1.14	1.300
3	2.88	.408	.616	.898	.741
4	4.06	.484	.686	1.340	.895
5	3.25	.385	.486	1.140	.932
6	3.58	.399	.687	1.290	1.740
7	2.73	.439	.953	1.510	1.610
8	3.42	.486	1.170	3.370	1.330
9	3.306	.480	.754	1.370	1.360
10	3.42	.542	.922	1.781	1.302
11	3.45	.203	.832	1.112	1.007
12	3.15	.142	.515	.769	1.014
13	3.87	.349	.542	1.200	1.050
14	4.22	.366	.492	.792	.722
15	3.02	.303	.477	.933	1.000
16	4.01	.367	.547	.739	.933
17	3.33	.289	.502	1.160	1.300
18	4.05	.294	.696	.873	1.760
19	2.57	.255	.776	1.160	1.167
20	3.62	.341	.791	1.010	1.040
21	3.80	.330	1.180	1.280	1.360
22	3.50	.265	.854	1.210	1.010
23	3.15	.296	.861	.851	1.030
24	3.41	.259	.568	.834	.675
25	3.08	.262	.688	1.030	.674
26	3.20	.277	.413	.972	.869
27	1.81	.190	.457	2.080	1.840
28	2.82	.235	.605	.965	1.460
29	3.61	.273	.555	1.360	.484
Medias	3.33	.330	.681	1.214	1.123

CUADRO No. 3

VALORES ABSOLUTOS μ /100 ML. SUEROS INFANTILES

No. de Casos	Albumina	Alfa 1 Glob.	Alfa 2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.
1	3.68	.275	.412	.922	1.300
2	4.41	.144	.306	.469	1.040
3	4.25	.231	.338	.373	.995
4	3.81	.242	.468	.821	1.020
5	4.10	.199	.309	.559	.784
6	4.60	.344	.500	.650	1.150
7	3.20	.204	.287	1.740	1.380
8	3.91	.190	.359	.864	.868
9	3.04	.262	.292	.491	.829
10	3.24	.236	.487	.690	.922
11	4.25	.288	.375	.905	1.208
12	4.03	.111	.326	.405	1.019
13	4.64	.227	.335	.814	.872
14	5.44	.276	.397	1.130	1.240
15	4.69	.150	.292	.317	.379
16	5.28	.173	.290	.330	.960
17	4.60	.094	.181	.258	.817
18	4.75	.164	.310	.488	1.060
19	3.89	.261	.436	.464	.718
20	4.05	.173	.306	.372	1.040
21	4.66	.158	.469	.362	1.600
22	3.44	.248	.335	.532	.773
23	3.33	.167	.278	.528	.684
24	4.50	.137	.263	.314	.518
25	3.10	.170	.318	1.330	1.020
26	3.16	.130	.353	.461	1.031
27	3.00	.164	.203	.372	.841
28	3.99	.324	.390	.340	.948
29	3.84	.149	.243	.445	.613
Medias	4.03	.203	.343	.612	1.964

CUADRO No. 4

VALORES ABSOLUTOS g. 100 ml. LIQUIDO AMNIOTICO

No. de casos	Albúminas	Alfa 1 Glob.	Alfa 2 Glob.	Beta Glob.	Gamma Glob.
1	.2220	.00440	.0091	.05830	.03360
2	.2900	.00620	.0726	.12700	.1450
3	.1794	.02910	.0667	.08340	.1210
4	.1785	.01341	.01482	.05568	.03741
5	.3501	.05073	.02571	.08013	.06412
6	.2328	.02168	.04144	.07992	.07199
7	.1808	.02452	.04394	.08580	.08274
8	.0752	.01028	.01584	.02296	.03563
9	.1686	.03440	.08510	.08860	.11241
10	.0541	.01855	.04021	.06807	.03093
11	.0987	.01455	.05800	.03236	.05826
12	.1913	.02277	.04555	.05013	.08431
13	.1870	.02030	.03250	.05284	.06710
14	.3908	.05664	.07646	.09062	.09345
15	.1280	.01106	.01991	.03762	.05091
16	.05908	.01339	.01551	.02061	.02267
17	.0665	.01737	.02036	.02576	.03657
18	.1550	.03108	.07774	.06997	.08295
19	.1146	.01389	.01958	.02542	.04131
20	.0112	.02901	.04220	.04485	.06066
21	.1120	.01567	.04079	.02824	.05022
22	.0354	.00472	.01064	.01301	.02010
23	.0139	.02154	.02692	.04308	.04847
24	.09603	.01291	.02701	.01996	.03171
25	.1162	.01083	.03410	.05113	.03563
26	.0992	.01043	.01418	.04254	.04776
27	.1561	.00826	.00943	.04610	.05203
28	.0973	.02488	.03168	.04526	.04075
29	.2474	.02872	.03498	.07623	.03246
Medias	.1547	.02115	.03677	.05398	.05835

CUADRO No. 5

VALORES OBTENIDOS EN 15 SUEROS DE RECIEN NACIDOS DEL SEXO FEMENINO.

No. de Caso	Proteínas Totales %	Albuminas gr. %	Globulinas gr. %	Relación A/G
1	6.60	3.70	2.90	1.2-1
4	6.38	3.88	2.50	1.5-1
5	5.96	4.06	1.90	2.1-1
10	5.58	3.36	2.25	1.5-1
11	7.04	4.25	2.79	1.5-1
12	5.96	3.36	2.60	1.2-1
13	6.82	4.80	2.02	2.3-1
14	8.48	5.14	3.34	1.5-1
17	5.96	4.40	1.56	2.8-1
18	6.82	4.40	2.42	1.8-1
20	5.96	3.88	2.08	1.8-1
21	7.26	4.40	2.86	1.5-1
23	4.98	3.70	1.28	2.8-1
28	6.00	4.00	2.00	2.0-1
29	5.30	3.88	1.42	2.7-1
Medias	6.20	4.71	2.26	1.8-1

VALORES OBTENIDOS EN 14 SUEROS DE RECIEN NACIDOS DEL SEXO MASCULINO.

No. de Caso	Proteínas Totales		Albuminas		Globulinas		Relación A/G
	gr.	%	gr.	%	gr.	%	
2	6.38		4.40		1.98		2.2-1
3	6.20		4.24		1.96		2.1-1
6	7.26		4.58		2.68		1.7-1
7	6.82		3.18		3.64		.87-1
8	6.20		3.88		2.32		1.6-1
9	4.98		3.02		1.96		1.5-1
15	6.20		4.06		2.14		1.8-1
16	7.04		5.34		1.70		3.1-1
19	5.74		3.18		2.56		1.2-1
22	5.34		3.36		1.98		1.6-1
24	5.74		4.58		1.16		3.8-1
25	5.96		3.02		2.94		1.0-1
26	5.14		3.18		1.96		1.6-1
27	4.58		3.02		1.56		2.9-1
Medias	5.97		3.79		2.18		1.9-1

CUADRO No. 7

VALORES ABSOLUTOS GR √% DE GAMMA GLOBULINA EN
29 SUEROS INFANTILES.

No. de Caso	NIÑAS	No. de Caso	NIÑOS
1	1.300	2	1.040
4	1.020	3	.995
5	.784	6	1.150
10	.922	7	1.380
11	1.208	8	.868
12	1.019	9	.829
13	.872	15	.739
14	1.240	16	.960
17	.817	19	.817
18	1.060	22	.773
20	1.040	24	.518
21	1.600	25	1.020
23	.684	26	1.031
28	.948	27	.841
29	.613		
Media	1.010	Media	.925

BRANCA

%

100

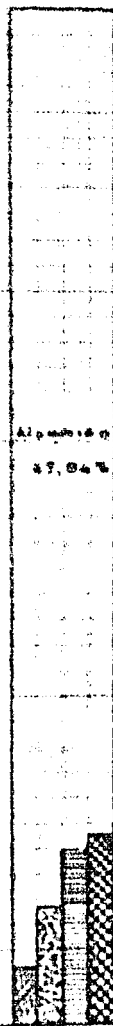
75

50

25

10

5

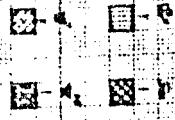


Sacrospinosa

Leucocitaria

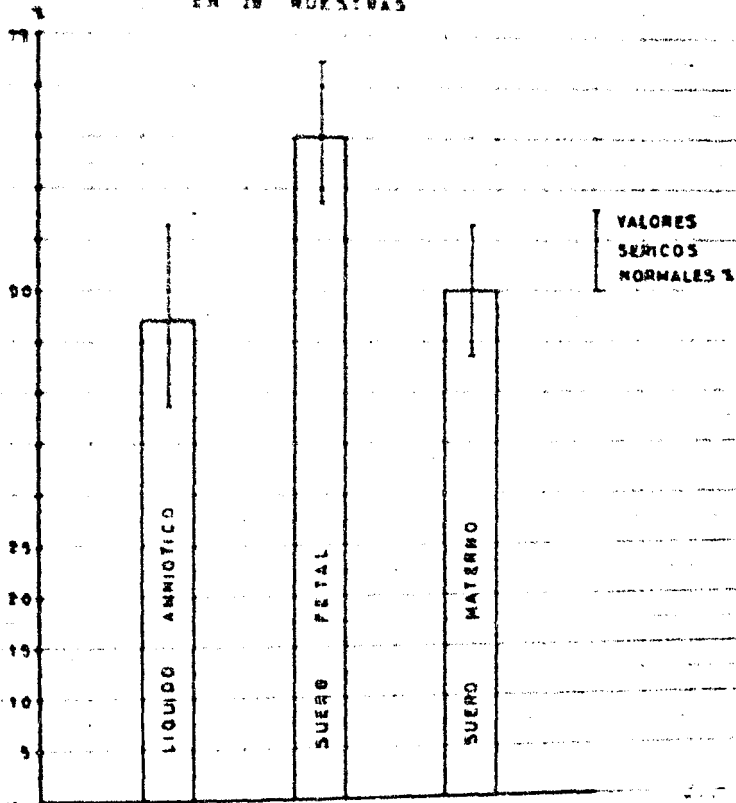
Sero Fetal

Sero Materna



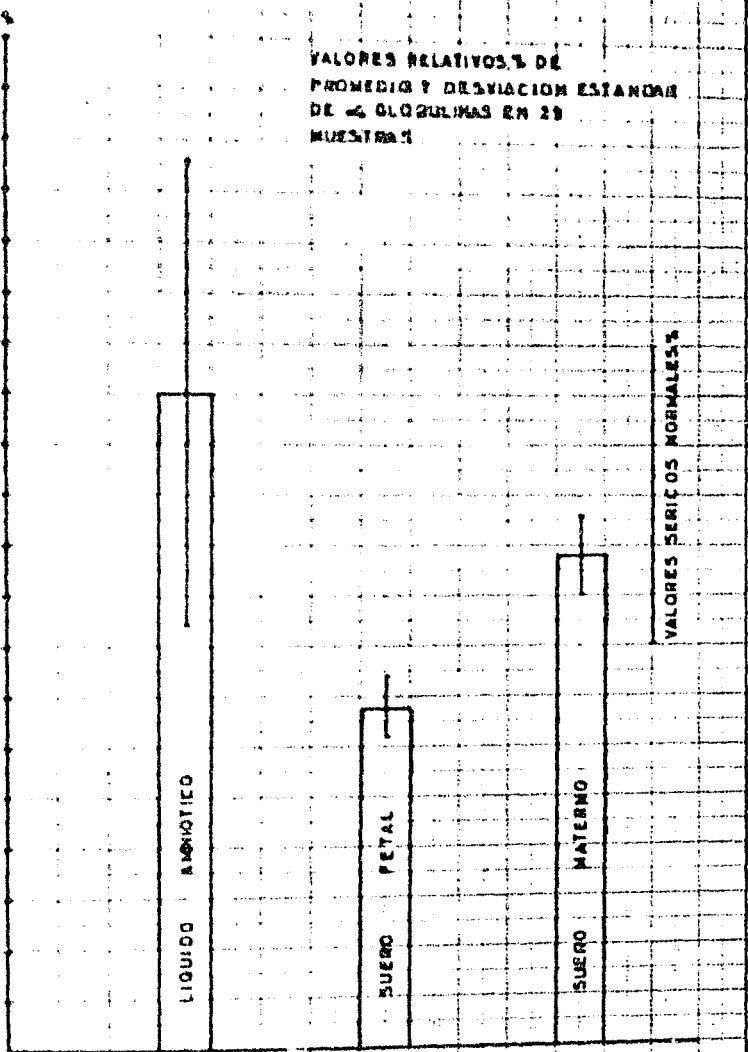
GRAFICA I

VALORES RELATIVOS % DE
PROMEDIO Y DESVIACION
ESTANDAR DE ALBUMINA
EN 28 MUESTRAS



GRAFICA 1

VALORES RELATIVOS % DE
PROMEDIO Y DESVIACION ESTANDAR
DE 4 GLOBULINAS EN 29
MUESTRAS



GRAFICA

VALORES RELATIVOS DE
PROMEDIO Y DESVIACION
ESTANDAR DE % GLOBULINA
EN 23 MUESTRAS

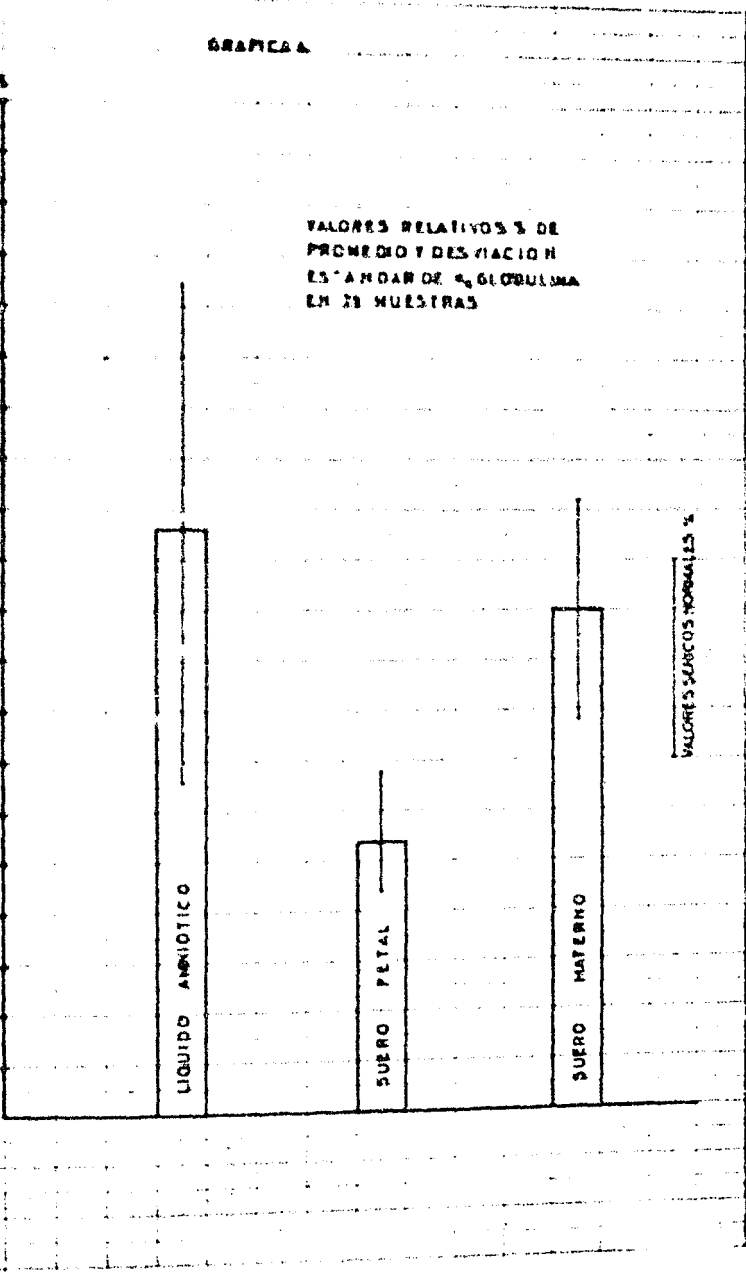
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1

LIGUIDO ANGIOTICO

SUERO PITAL

SUERO MATERNO

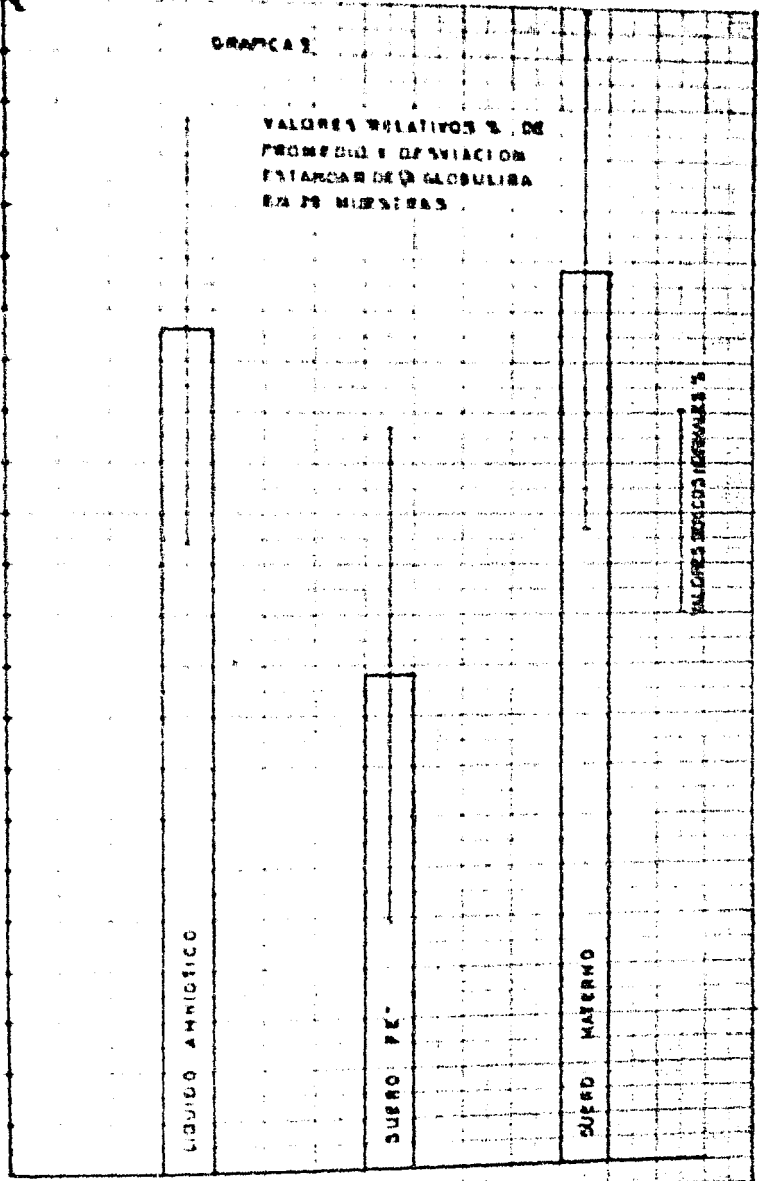
VALORES SUJECOS NORMALIZAS %



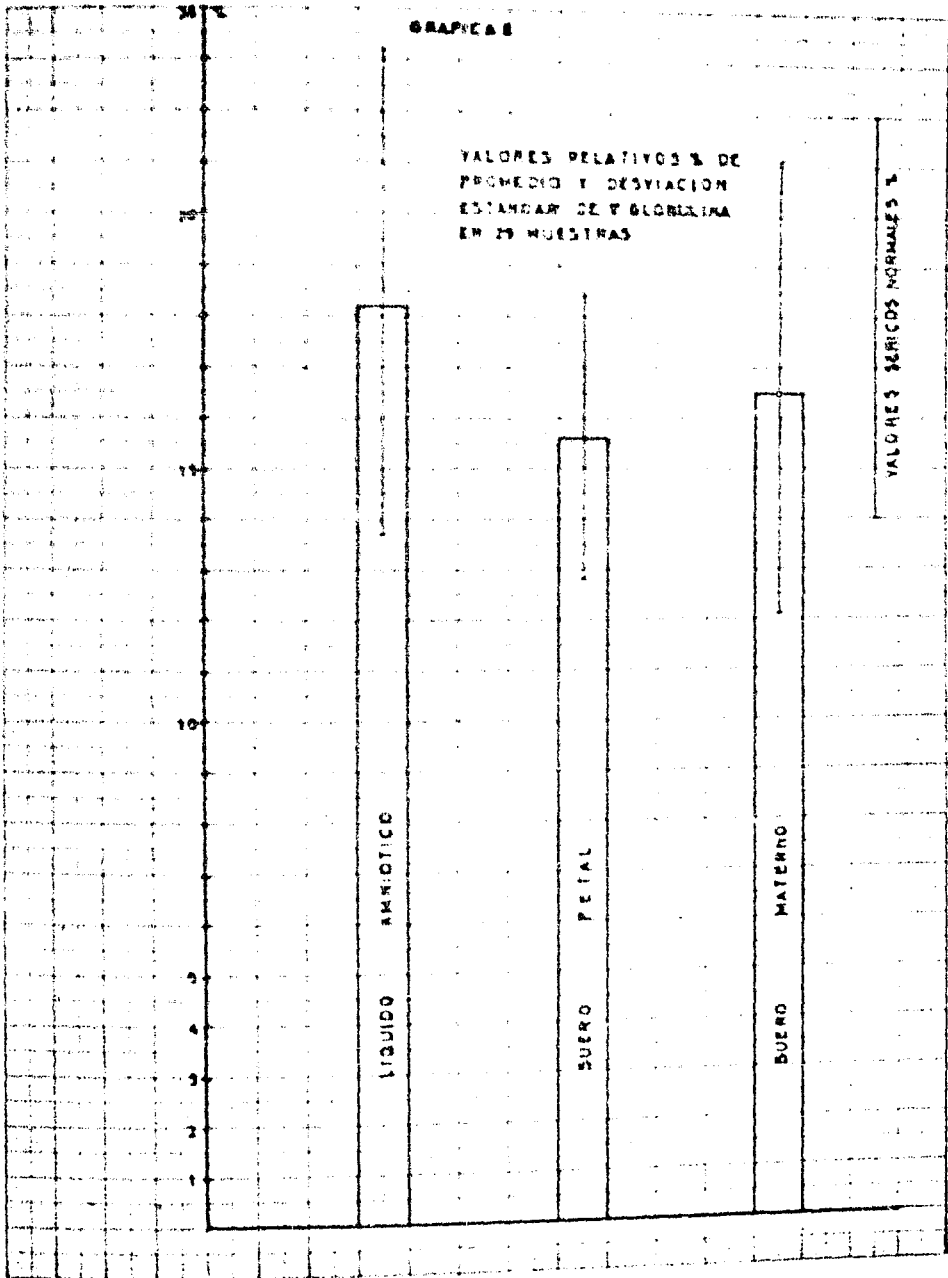
117

GRAPCA 2

VALORES RELATIVOS % DE
PROMEDIOS DE SVIACION
ESTANDBAR DE GLOBULINA
EN 20 MUESTRAS



VALORES ESTANDARES NORMALES %



DISCUSION Y COMENTARIOS

Indudablemente el aspecto que más se presta a discusión de los re-sultados obtenidos es el hecho de que parece existir una más estrecha relación entre protidograma materno y el del Líquido Amniótico, que entre el primero y el protidograma infantil. Esto es evidente si se observa la gráfica No. 1 en la que se han representado esquemáticamente los valores porcentuales relativos, normales y de cada uno de los grupos estudiados. Este hecho señala en nuestro concepto que las proteínas encontradas en el líquido amniótico son más que un dializado producto de una secreción activa de origen materno. Indudablemente la confirmación de esto podría ser dada si se estudiasen con isótopos mar-cados el destino, metabolismo y destrucción de las proteínas maternas.

La hipótesis anterior se ve aún más apoyada al observar la gráfica No. 2 en la que los valores de albúmina del Líquido Amniótico y Sueros - Maternos son prácticamente iguales, mientras que los valores encontrados en los Sueros Infantiles sobrepasan con mucho a los anteriores.

En el resto de las fracciones se puede observar un fenómeno semejante (ver gráficas No. 3, 4, 5 y 6). Merece especial atención el hecho de que las Beta Globulinas cuyo ascenso se ha descrito al final del embarazo- (39), en el Suero Materno, también se encuentra en el Líquido Amniótico. Es innegable que este fenómeno guarda relación con el elevado nivel que alcanza

la secreción de hormonas esteroideas maternas, ya que la principal función de la fracción Beta Globulina es servir como medio de transporte plasmático para estos productos de secreción interna, los cuales también aparentemente se encuentran en el Líquido Amniótico y podría explicarse por el mismo mecanismo, la elevación de Beta Globulina en el líquido.

Otra de las hallazgos sumamente sugestivos es que existe una clara aunque no significativa diferencia en el protidograma sérico de los recién nacidos de acuerdo con el sexo de los mismos.

En los Cuadros No. 5 y 6 aparecen los valores individuales y -- promedio encontrados en las sueros de niños y niñas respectivamente. Es evidente que a pesar del mayor peso corporal de los niños al nacer sus valores -- protéicos son en general menores a los encontrados en las niñas. Uno de los hechos más importantes en nuestro concepto es la diferencia encontrada en la fracción Gamma Globulina (ver Cuadro No. 7), dato que por otra parte consideramos podría guardar relación con la observación clínica de que los recién nacidos del sexo femenino son menos lábiles y presentan una mayor resistencia a agentes agresores externos, que los sujetos de sexo masculino.

Por otra parte como se observa en la gráfica No. 6 los valores -- relativos de Gamma Globulina encontrados en el Líquido Amniótico en el gru -- po total, son los más altos de las tres muestras estudiadas. Este fenómeno -- además correlaciona estrechamente el sexo de los recién nacidos, es decir que los valores de fracción Gamma Globulina en el Líquido Amniótico de produc-

tos de sexo femenino es más alto que en los del sexo masculino.

Todas estas datos sugieren en nuestro concepto como ya se había señalado que el origen del líquido amniótico parece corresponder a una secreción activa materna y que muy probablemente algunas de sus fracciones proteicas especialmente Gamma Globulina, desempeñen un importante papel que tiene como consecuencia que el producto alcance una maduración seroprotéica con las implicaciones, particularmente en lo que aspectos inmunológicos se refiere.

Finalmente consideramos indispensable señalar que si bien, los resultados obtenidos no permiten establecer con un elevado grado de certeza las hipótesis ya mencionadas, y más que responder plantean nuevas preguntas, si se aolan la necesidad de profundizar y continuar este tipo de investigaciones.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

- 1.- Se revisaron los aspectos más importantes y relacionados a origen y fisiología del líquido amniótico.
- 2.- Se revisan brevemente el origen, metabolismo, distribución, métodos de estudio y fisiología de las proteínas y sus diversas fracciones en el hombre.
- 3.- Se realiza un estudio sobre la constitución protéica del Suero Materno, Suero del Recién Nacido y Líquido Amniótico en un grupo de 29 mujeres.
- 4.- Se encuentran que la fracción Albúmina en los Sueros de los Recién Nacidos sobrepasa a las otras dos muestras estudiadas. Este fenómeno parece correlacionar con el peso corporal del recién nacido.
- 5.- Se encuentra una relación más o menos clara entre el contenido protéico del Líquido Amniótico y del Suero Materno.
- 6.- Parece existir una relación entre los niveles de Gamma Globulina en Suero del Recién Nacido y Líquido Amniótico con respecto al sexo de los primeros.
- 7.- Se comenta la posible relación inmunológica peri y neonatal que este fenómeno pudiera tener.

B.- Se plantea la posibilidad de que el origen de las proteínas en el Líquido Amniótico sea más que un dializado, producto de un proceso de secreción activa materna y que pudiera intervenir en el proceso de maduración - teraprótica del recién nacido.

BIBLIOGRAFIA

- 1).- Makepeace, A. W., Freemont-Smith, F., Dailey, M. E., and Carrol, - M. P., "Nature of Amniotic Fluid. A comparative Study of Human Amniotic Fluid and Maternal Serum". Surg. Gynec. Obstet. 53:635, 1931.
- 2).- Palano, O. Exp. Beiträge. "Zur Biologie Der Schwangerschaft, Ein Beitrag Zur Physiologie Der Plazenta"., Ztschr. F. Geburtsh. U. Gynök., - 53:456., 1904.
- 3).- Vastburgh, G. J., Flexner, L. B., Cowie, D. B., Hellman, L. M., -- Proctor, N. K., y Wilde, W. S., "The Rate of Renewal in Woman of - the water and sodium of the Amniotic Fluid as determined by Tracer - - Techniques"., Am. J. Obst.- Gynec. 56:1156., 1948.
- 4).- Elliot, P. M. and Inman, W. H., "Volume of Liquor Amnii in normal - an abnormal pregnancy"., Lancet, 2:835, 1961.
- 5).- Cantarow, A., Stuckert, H. y Davis, R. C., " Chemical Composition - of Amniotic Fluid. A Comparative Study of Human Amniotic Fluid and - Maternal Blood"., Surg., Gynec.-Obst., 57:63., 1933.
- 6).- Davis, D.C.A., "Blood Pigments in Hemolytic Disease of the Newborn"., Brit. Cwllth., 63:68, 1957.
- 7).- Liley, A. N.: "Liquor Amnii Analysis in the Management of Pregnancy - Complicated by Rhesus Sensitization"., New Zeland M. J., 59:581, 1960.
- 8).- Gamall, A. G., Bardawill, C. J. and David M. M., "Determination of Serum Protein by means of Biuret Reation"., J. Biol. Chem., 177:751, - 1960.
- 9).- Durrum E. L., "A Microelectrophoretic and Microinophoretic Technique"., J. Amer. Soc., 72, 4329, 1950.
- 10).- "Papel Electrophoresis System"., Instruction Manual., Beckman Spinco -- Division RIM-5.

- 11).- Fox, S. N. y Foxter, J. F. "Introduction to Protein Chemistry, New -- York, John Wiley and Sons, Inc., 1957.
- 12).- Haurowitz, F.: "Chemistry and Biology of Proteins". New York Academic Press, Inc. 1950.
- 13).- Newrath, H. and Bailly K.: "The Protein". New York, Academy Press - Inc. 1953-1954.
- 14).- Rose, W. C. "Amino acid requirements in man". Fed. Proc. 8:546. - 1949.
- 15).- Cantarow, A. and Schepartz, B. Biochemistry. 3a. Ed. Philadelphia. -- W. B. Sanders Co. 1962.
- 16).- Ray, Q. Brewster and William, E. Mc.Ewen. "Organic Chemistry". 3a.- Ed. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. J. 435: 36, 1963.
- 17).- Dr. P. Karlson y Dr. F. Pulido. "Manual de Bioquímica". 57:58, España 1965.
- 18).- Theodoro Peters Jr. and Christian B. Anfinsen. "Net Production of Serum Albumin by liver Slices". J. Biol. Chem. 186:605. 1950.
- 19).- Miller, L. L. C. G. Bly, M. L. Watson and W. F. Bale. "The Dominant role of the liver in Plasma Protein Synthesis". J. Expt. Med. 94:431. - 1951.
- 20).- Grass J. "Proteínas Plasmáticas". Físicoquímica, Metabolismo, Fisiopatología y Clínica de las proteínas extracelulares. Ed. Jims. Barcelona -- 1956.
- 21).- Garnall A. G. Badawill, C. J. y David M. M. "Serum Proteins Estimation". J. Biol. Chem. 177:751. 1949.
- 22).- J. Linch, S. Iley, S. Raphael, Leslie D. Mellor, Peter D. Spare, Peter Hills, and Martin J. M. Inwood. "Medical Laboratory Technology". W. B. Sanders Company, Philadelphia and London. 91:92. 1963.

- 23).- De la Huerga, J. Y Popper, H. J. Lab. and clin. Med. 35:459. 1950.- (Gamma Globulina Estimation).
- 24).- Jorge Alberto Gómez Rdz. "Evaluación del grado de madurez Fetal por - Evaluación de las fetoproteínas". Tesis Profesional, 1967.
- 25).- Ramirez E. Ma. de los Angeles. "Fraccionamiento Electroforético de Proteínas en Líquido Amniótico". Tesis Profesional. 1967.
- 26).- Ewerbeck H. and H. E. Lenzen. "Die Bildung der Serumem Weisskörper des kindlichen Organismus bis zur Geburt und ihre Beziehung zum mütterlichen Serumweiß, Spektrum während der Schwangerschaft." Kinderh. 98 436. 1950.
- 27).- Hitzing, W. H. "Das Bluteiweißbild beim gesunden Säugling". Helvet - Paediatr acta. 16:46. 1961.
- 28).- Longworth. L. G. Curtis, R. M. Pembroke, R. H. "The Electrophoretic Analysis of Maternal and Fetal Plasma and Sera". J. Clin. Invest. -- 24:46, 1945.
- 29).- Block, R. J. et. al: "Paper Electrophoresis. A. Manual of Paper Chromatography and paper Electrophoresis". Academic Press. New York. 489: 665. 1958.
- 30).- Glastone, S.: "Elementos de Físico Química, Ed. Med. Quirúrgica. --- Cap. XVII. 669:713, Bs. As. Arg. 1952.
- 31).- Ribeiro, L. P. Meditieri E. Alfonso R. "Paper Electrophoresis". Elsevier Publishing Company. Pag. 20. 1961.
- 32).- Tiselius A. "A New Apparatus for Electrophoresis of Coloidal Mixtures." Trans. Faraday Soc. 33:524. 1937.
- 33).- Dole, V. P. and Braw, Esther. "The Electrophoretic pattern of normal plasma". J. Clin. Invest. 23:708. 1944.
- 34).- Koning P. "Actas e Trabalhos do Terceiro Congresso Sul Americano de Química". 334. Rio de Janeiro. 1937.

- 35.- Langmuir, I. G. and Mc. Lewis, D. A. "Electrophoresis of Proteins by the Tiselius Method". Recent Advances in the Study of Proteins by Electrophoresis. Chem. Rev. 30:123, 1942.
- 36.- Cooper, G. R. "Electrophoretic and Ultracentrifugal Analysis of Plasma Human Serum". The Plasma Proteins, Chap. 3, pp. 31-100. Vol. I. Ed. Frank W. Pittman. Academic Press, New York and London, 1948.
- 37.- Lowry, C. B. and Farrall, S. "Electrophoresis of Plasma Proteins". The Lancet. 2:40, 1955.
- 38.- Brown, D. F. "Observations on some serum components in full-term and preterm newborn infants". Am. J. Obst. Gynecol. 77:555, 1959.
- 39.- Bradford Hill, A. "Principals of Medical Statistics". Traducción al castellano por José Augusto Coll. 2a. Ed. en español, Dr. As. 1950.

ESTA TESIS SE EMPRENDE EN PERIODO DE TIEMPO
EMPLEANDO EL SISTEMA DE REPRODUCCION
SERVO-OPPER EN LOS TALLERES DE
IMPRESION OPPEL S. A., C/ MIER Y PESADO 1000
Y AV. COLONIA DEL VALLE 57 COL. DEL VALLE
MEXICO D. F. TEL 22101 Y 22102