

ELECTROFORESIS EN SANGRE MATERNA Y PLACENTARIA

G. DÍAZ DE YRAOLA.

Jefe del Servicio de Hematología y Hemoterapia.
Instituto Provincial de Sanidad. Sevilla.

El plasma sanguíneo mantiene, con un equilibrio dinámico y activísimo, una armonía biológica, representada por una constante, en la cantidad y proporción entre los componentes de su organización proteica. Es decir, las proteínas plasmáticas totales se mantienen, en fisiología, con un reducido índice de variación, y asimismo las diversas fracciones plasmáticas que la componen. En este sentido existe una verdadera individualidad entre las diversas especies animales, que tienen un espectro proteico característico, que aunque con pequeñas diferencias por su constancia pueden señalar esta individualidad.

Así TISELIUS, y recientemente MOORE, han precisado, mediante placas electroforéticas, que en la gallina "no sólo hay un diagrama propio de especie, sino que hay diferencia entre macho y hembra": la gallina tiene generalmente, con caracteres de fijeza, mayor porcentaje en gamma-globulina.

Este equilibrio proteico, ante ciertas contingencias más o menos relacionadas con la patología o la actividad celular, se rompe y puede dar lugar a los cuadros de hiper, hipo o disproteinemia, al fallar algunos de los mecanismos compensadores que para el mantenimiento de esta constante dispone el organismo.

RELACIONES FETO-MATERNAS.

A continuación se expone un aspecto parcial de las relaciones feto-maternas: la proteinemia determinada por electroforesis en la sangre materna en el momento del parto y la correspondiente determinación en la sangre fetal.

En estas relaciones a través de la placenta se mantiene un interés biológico no sólo en patología, al intentar precisar la patogenia de diversos cuadros clínicos, sino con relación a otros mecanismos tales como:

La inmunidad del recién nacido.

La conducta de ciertos elementos filtrantes (colorantes, lipoides, hormonas, anticuerpos etcétera).

Paso de anticuerpos de grupo.

Relaciones con la lactancia, etc.

Se trata así de establecer al menos las bases de una posible relación o interdependencia entre las fracciones plasmáticas, maternas y fetales. Asimismo interesa precisar, en la enfermedad hemolítica del recién nacido, la participación de la placenta con respecto a la pretendida permeabilidad.

La comparación de los niveles a través de lo que constituye la barrera o el filtro placentario, el situar cuánto tiene de barrera y cuánto tiene de filtro esta conexión feto-materna, es a mi juicio comparable, en su interés etiopatológico, al estudio del filtrado glomerular, en relación a la orina, que en la función renal determina lo que segregá el glomérulo y lo que reabsorben sus tubulis, es decir, la función de la nefrona.

Existe la posibilidad de que una madre engendre un hijo antigenicamente diferente y en ocasiones con perniciosa incompatibilidad, porque la integridad de esta barrera no ha defendido su personalidad grupal o, en último término, su individualidad o independencia. Por esto, con relación a la placenta, este intercambio selectivo es del mayor interés no sólo como ejemplo general de la conducta de los elementos filtrantes, sino como causa coadyuvante necesaria en la etiología de ciertos cuadros clínicos.

Solamente en el 1/38 de los casos en que una mujer engendra un feto de grupo incompatible surge una isoimunización, porque esto ocurre cuando, por razones no bien conocidas, a esta combinación de grupos, posiblemente incompatibles, se suma una hipotética permeabilidad que permite, en primer lugar, el paso del antígeno del hijo a la madre, causa inmediata de la inmunización, y en segundo lugar, más tarde, el paso de las aglutininas neiformadas por las madres, que en sentido inverso, al entrar en el feto, serán las causantes de los fenómenos hemolíticos.

Se describen con frecuencia, por algunos autores, la existencia de desgarros de las vellosidades, infartos hemorrágicos o roturas de los vasos fetales, en las placetas de la isoimunización, como causa explicativa de esta fácil permeabilidad; pero no podemos olvidar que el desgarro constituye un mecanismo fisiológico de su desprendimiento o desinserción y es por tanto muy difícil interpretar si los infartos hemorrágicos fueron previos a las contracciones musculares desinsertantes o simplemente su consecuencia. Pero incluso aceptando este mecanismo, no nos explica del todo el paso de los anticuerpos, pues esto ocurre no de manera accidental como corresponde a un desgarro, sino de forma constante, incluso cronológicamente, en todos los embarazos de una mujer afecta de isoimunización.

También es preciso considerar que en este paso a través de la placenta se exigen ciertas características en el grupo antigenico. Se han descrito algunas inmunizaciones feto-maternas a los más diversos factores, pero son infinitamente más numerosos los caracteres específicos, intransferibles y posiblemente incompatibles con la madre, que constituyen la personalidad inmunológica o antigenica del hijo. Hay por tanto que establecer, aunque sea teóricamente, una cualidad especial en estos grupos

antigénicos, que acaparan, aparte de excepciones, esta típica isoimunización.

Parece lógico que las roturas puedan ser un mecanismo accidental, pero no es a mi juicio suficiente para explicar esta permeabilidad selectiva y precisa.

LA ESTRUCTURA PLACENTARIA.

Durante la gestación la disposición estructural de la placenta evoluciona y esta evolución puede relacionarse con la fisiopatología de los intercambios feto-maternos.

Inicialmente la placenta joven es un órgano proporcionalmente grande, rico en conjuntivo, en la que la capa de Langhans y el sincitio están bien desarrollados y los vasos muy separados. En este momento la placenta cumple, para algunos, una misión talmente de órgano, quizás hormonal o simplemente función almacén; pero a medida que avanza la evolución embriológica se reduce el tamaño proporcional de la placenta, a expensas precisamente de esta "tierra de nadie"; es decir, la capa de Langhans ha desaparecido, el sincitio se ha aplastado hasta constituir una empalizada de núcleos y el estroma se ha reducido hasta quedar los vasos en contacto con la superficie.

En la clínica vemos que en la mujer afecta de una isoimunización el nuevo embarazo se interrumpe, o sufre la mayor agresión, precisamente en este período, cuando corresponde la reducción placentaria, momento en que al parecer se plantea el encuentro entre la individualidad materna y fetal.

Al estudiar la histología de las placentas nos encontramos con que en la enfermedad hemolítica del recién nacido, cuando tenemos que suponer la existencia de una permeabilidad, o más concretamente, del paso de un antígeno y de un anticuerpo, es cuando existe en esta placenta una hipertrofia conjuntiva. En estas placentas de la isoimunización ocurre lo contrario de lo que al parecer sería una fácil permeabilidad, puesto que se refuerzan los espacios intervasculares. Si ocurre este paso, es a través de mayores dificultades, por lo que cabe preguntarse si esta esclerosis o "cirrosis" placentaria es consecuencia o causa de la paralela exacerbación inmunopoyética. Histológicamente en la placenta de la enfermedad hemolítica se demuestra la casi desaparición del espacio intervelloso, a veces quedan restos de sincitio y de células de Langhans que fisiológicamente deben desaparecer al cuarto mes, el estroma muestra una gran hiperplasia con frecuentes vacuolas, edemas y focos de hematopoyesis. Es una placenta que macroscópicamente se parece a la sifilitica y tiene un gran peso.

En resumen, podemos concluir en que la evolución placentaria que normalmente reduce su volumen y sus espacios conectivos en la enfermedad hemolítica del recién nacido se detiene proporcionalmente esta reducción, y al detener-

se surge una evidente consecuencia en la estructura placentaria: las pérdidas de las relaciones entre los diversos componentes de esta estructura, fundamentalmente conjuntiva. No podemos, pues, dejar de considerar que el conjuntivo posee una extraordinaria virtud "plástica", o transformativa, que le lleva o puede llevar desde la especialista función hematopoyética hasta la transformación fibroplástica fibrosa o esclerosa y siempre más o menos relacionada con los fenómenos de proteogénesis y de inmunidad.

ELECTROFORESIS Y MÉTODOS.

En el presente trabajo exponemos la técnica utilizada y los resultados obtenidos en la comparación de la proteinemia materna y fetal.

Con la colaboración de M. RECASENS, J. CUADRI, A. G. MENÉSES y M. GUIASADO se han obtenido muestras de sangre procedentes del cordón umbilical y porción placentaria, y la correspondiente en la madre por punción venosa en el momento del parto.

En los sueros sanguíneos respectivos, limpios de hemolis, se han determinado:

1. Grupo sanguíneo sistema A, B, O.
2. Títulos de los anticuerpos anti-A y anti-B.
3. Proteínas totales.
4. Fracciones proteicas por electroforesis.

En el presente trabajo nos referimos exclusivamente a los datos obtenidos en las electroforesis y reservamos los conseguidos en los apartados 1, 2 y 3 para otras consideraciones complementarias.

La electroforesis se ha verificado con la técnica y aparato de BENDER y HOBEIN sobre papel de 38 mm. de banda (Elphor). Este aparato tiene las siguientes características:

Cubeta horizontal.

Tiempo de electroforesis = 12 horas.

Cantidad de suero = 0,007.

Sol. Puffer Veronal S. = pH = 8,6.

Tinción = negro de amido.

Lavado = metanol y 10 % de ácido acético.

Inclusión de las bandas en "Transparenol"

(Elphor) = 20 minutos.

Lectura en fotómetro de célula

= Elphor-BENDER-HOBEIN.
Lectura planimétrica de la curva, mediante el planímetro especial Elphor-BENDER-HOBEIN.

Según esta técnica se obtiene una curva similar a la de TISELIUS, expresión de 85-90 valores fotométricos, y que separa 5 fracciones con una velocidad electroforética sucesivamente menor desde la albúmina, globulina alfa 1, glob. alfa 2, glob. beta y glob. gamma.

RESULTADOS.

La consideración de los valores obtenidos pueden relacionarse con:

1. Valores medios de la madre en el momento del parto.
 2. Valores medios del feto a término o de sangre placentaria.
 3. Relaciones mutuas de estos valores.
- Es preciso valorar en la proteinemia materna las posibles variaciones ligadas al embarazo, pues parece existir un espectro gravídico y más

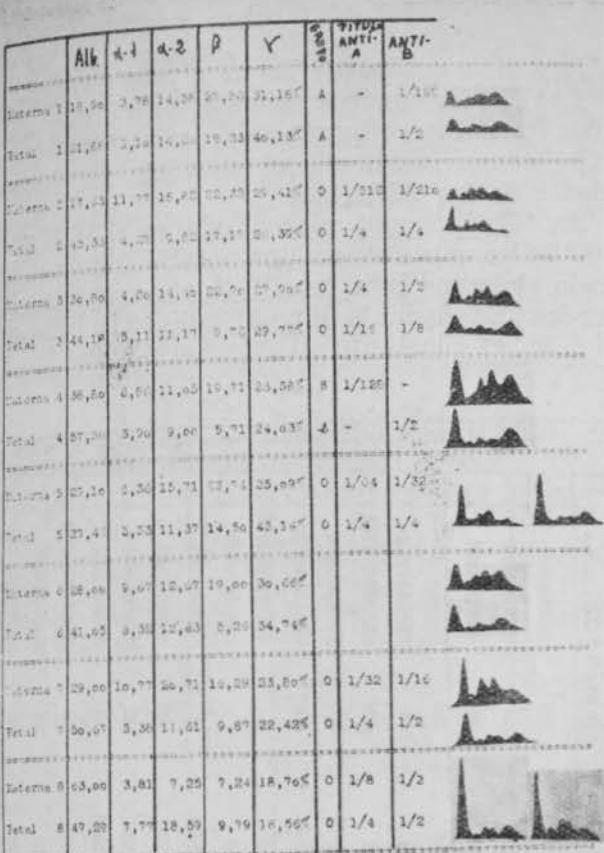


Fig. 1.

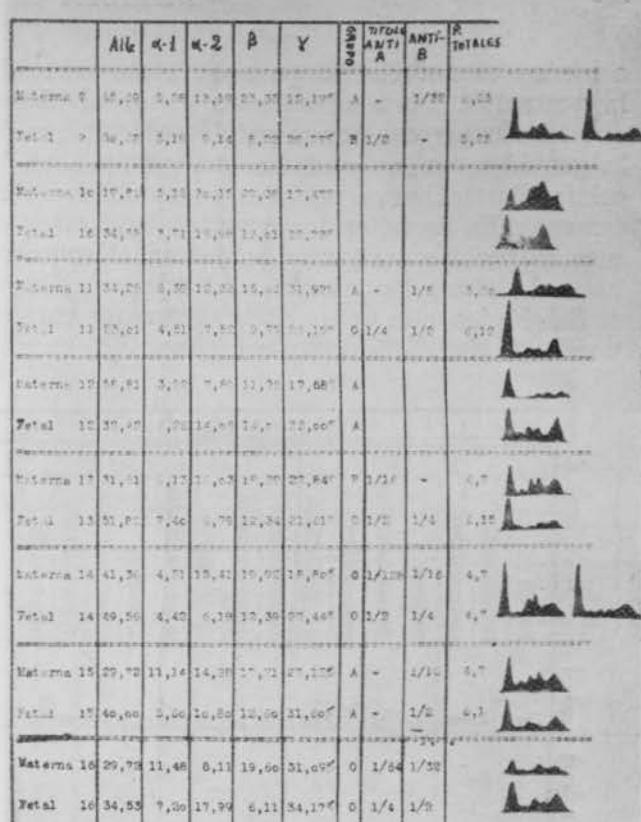
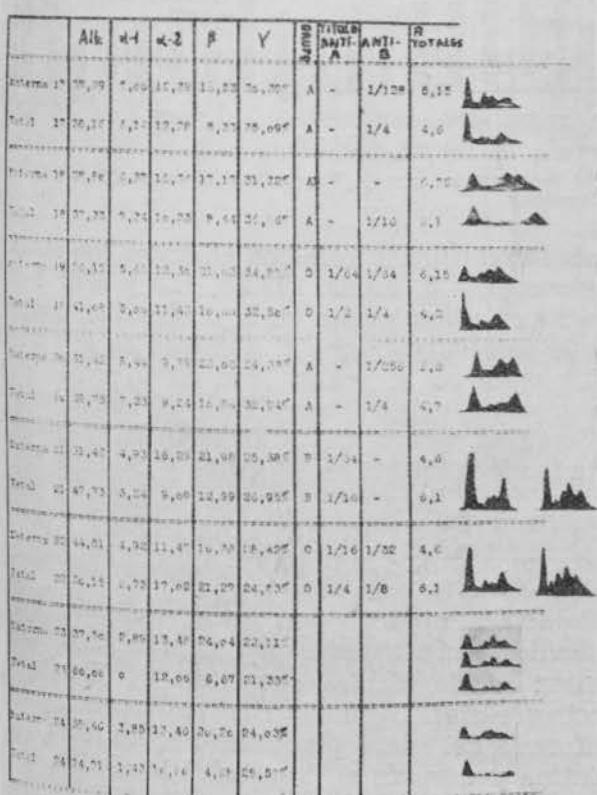


Fig. 2.



o menos característico para cada momento de la gestación. Pero además no puede olvidarse que en ciertas ocasiones patológicas típicas de la gravidez, en las gestosis, por ejemplo, en la eclampsia, la curva proteica se modifica fuertemente. Es decir, en los espectros que estudiamos es preciso compararlos no con el espectro normal del adulto, sino con el que constituye, el fisiológico, a la época de gravidez que corresponda. Y es difícil situar con exactitud, en una

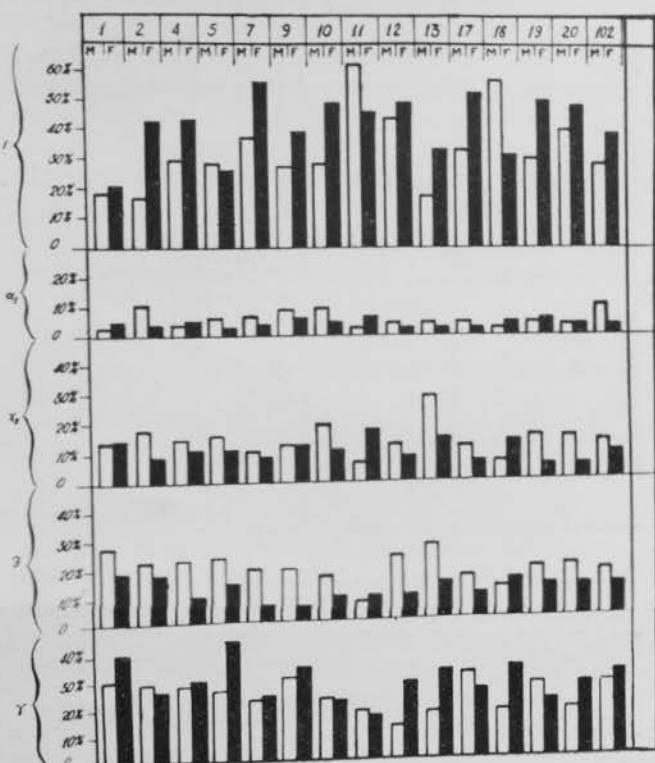


Fig. 5.

Figuras 5 y 6.—Proteinemia materna (columnas blancas) y fetal (columnas negras). Verticalmente pueden leerse las fracciones individuales.

embarazada, dónde termina el límite de lo normal y empieza lo patológico, en ese cortejo de trastornos más o menos comunes del embarazo.

En las figuras 1, 2, 3 y 4 se expresan la totalidad de los valores obtenidos en 64 muestras de sangre y sus correspondientes diagramas electroforéticos reducidos de tamaño. En éstos se pone claramente de manifiesto que el aspecto de la curva no es suficiente para la valoración porcentual de las distintas fracciones.

Los datos de la proteinemia se expresan, en valores porcentuales, más claramente en las figuras 5 y 6, en que estos valores están representados en columnas negras para la sangre fetal y blancas para la materna. Verticalmente pueden leerse las distintas fracciones proteicas individuales.

Por último, en la figura 7 se representan los valores en series de puntos agrupados por fracciones y próximos los de madre y feto para comparar.

Sin pretender sacar consecuencias generales, pueden deducirse, al parecer, una independencia relativa entre los valores de la madre y del

hijo y creo que puede llegar a precisarse que:
 1.^o En las madres coincide (en el 84,37 por 100) una hipo-albuminemia, con respecto al hijo, compensada con el aumento correspondiente de las globulinas.

2.^o En la sangre placentaria, en el 84,37 por 100 de los casos existe una notable disminución de la globulina beta, en el feto, con respecto a la madre. Es decir, la hipo-globulinemia beta, en el feto, es constante en relación a la madre.

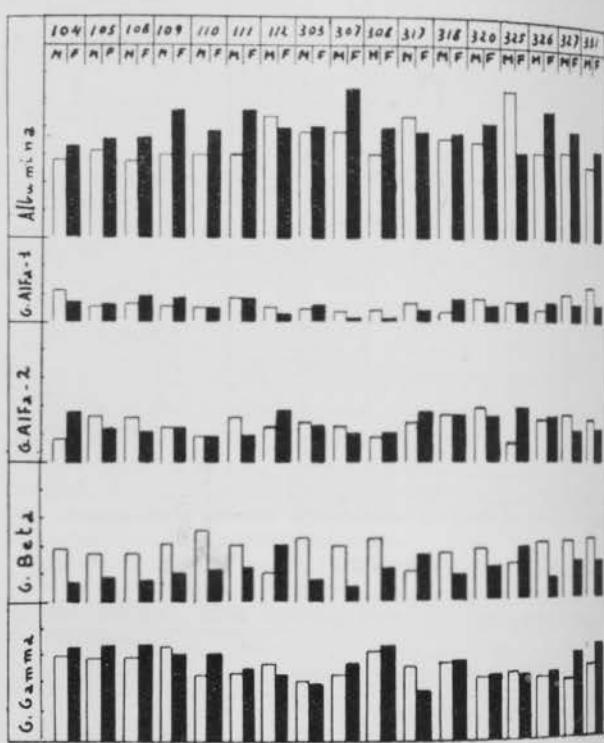


Fig. 6.

en las excepciones coincide en todos los casos (figuras 5 y 6, núms. 11, 18, 112 y 325) con una hiper-albuminemia en la madre. Por tanto, puede esto sugerir que el aumento de la albúmina materna se realiza con cierto grado de dependencia, especialmente de la globulina beta.

Como es sabido, COHN sitúa en la globulina beta las isoaglutininas de grupo y coincide con la realidad clínica el hecho de que el recién nacido tiene, en efecto, una gran pobreza y presenta unos títulos muy bajos, a veces imperceptibles, de aglutininas de grupo.

Coinciden también con estos resultados los obtenidos recientemente por MARTIN E. SCHEIDEGGER con la técnica que titula de "Immuno-electroforesis". Según la cual realiza una electroforesis del suero placentario sobre placa de gelatina y después el "revelado" lo efectúa colocando al margen de la placa un trazo de inmunosuero de caballo, "anti-suero-humano", con lo cual obtiene una diferencia de transparencia en la placa de gelatina, en forma de arcos, que corresponden a las diferentes fracciones.

Por este sistema pone de manifiesto la ausencia en la sangre placentaria de una globulina aneja a la beta, que es la que titula "beta-x". Es decir, esta globulina beta-x, que presentan los sueros de adultos, no se presenta en los placentarios y sólo aparece en los primeros días de la vida. Podemos, pues, considerar la disminución de globulina beta, que obtenemos en nuestras determinaciones, como debidas posiblemente a esta ausencia.

Como producto de estas relaciones es preciso

y si no se produce es genéricamente porque el antígeno o el anticuerpo o no existe o está enmascarado. La existencia del antígeno parece indudable; puesto que él ha provocado la inmunización, quizá posea en los primeros momentos menos potencia antigénica, mientras que se va labrando la personalidad específica del individuo, o como le llama LATTES, la "individualidad hemática", pero esta potencia ha sido la suficiente para lograr la inmunización en la madre.

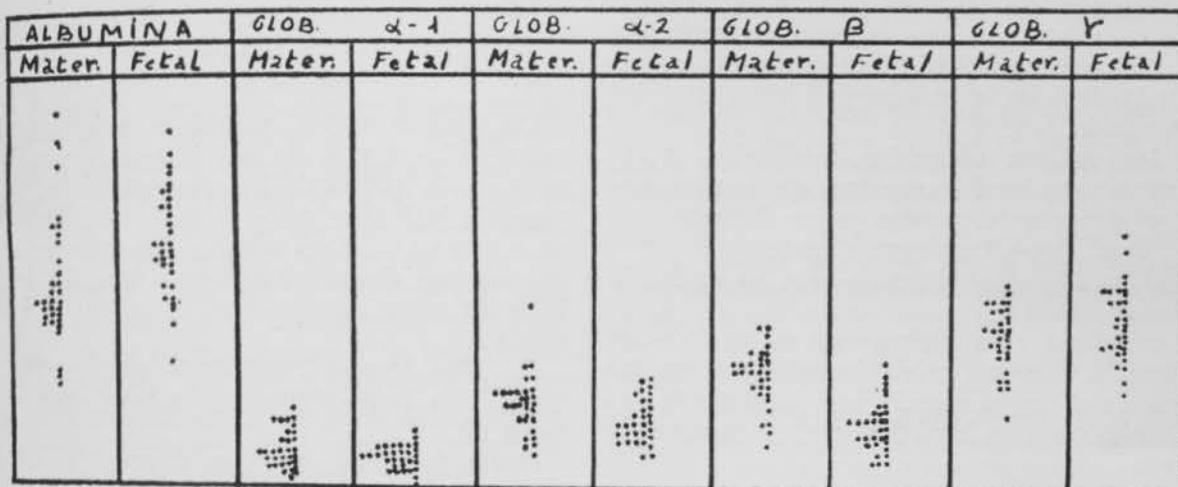


Fig. 7.—Fracciones, en series de puntos, materna-fetal. Nótese la hipoglobulinemia-beta con respecto a la madre.

considerar la inmunidad del recién nacido ante ciertas infecciones y cabe preguntarse si esta disminución porcentual de la globulina beta corresponde al aumento porcentual de la globulina gamma, fracción encargada de esta defensa, y que en las presentes determinaciones están en mayor cuantía que en la madre en el mayor número de casos.

LA HIPO-BETA-GLOBULINEMIA FETAL

Con las anteriores consideraciones creo que podemos relacionar la existencia de un problema etiopatogénico, que se plantea en el recién nacido, en la forma menos grave de la isoinmunización: la ictericia hemolítica. En estos casos, el niño que constituye generalmente el tercero o el cuarto del matrimonio heterogrupal, nace sano y al tercer día casi cronométricamente se tiñe de ictericia, se anemiza, etc., y si no se actúa con exanguinos o con transfusiones de sangre, totalmente compatible, el niño muere o por lo menos corre un grave riesgo. Pero el problema que hemos citado se refiere al lapso de tiempo en que el niño vive sano, cuando ya es portador de las aglutininas "anti", elaboradas por la madre, que incluso a veces pueden objetivarse en los glóbulos del recién nacido mediante la reacción de Coombs.

No cabe duda de que si el niño es portador de este anticuerpo incompatible con sus glóbulos, la reacción hemolítica debía de producirse,

Puede, por tanto, situarse este problema:

- 1.^o Como relativo al anticuerpo.
 2.^o Probablemente en relación con el momento evolutivo de los órganos hematopoyéticos.

Es preciso tener en cuenta que en los órganos hematopoyéticos, o más genéricamente, en el mesénquima activo, retotelio o S. R. E., es donde probablemente reside la función de la proteinogénesis, que como es sabido constituye el soporte de la inmunidad. El desarrollo embrionario de estos órganos se desenvuelve, en la vida fetal, a través de distintos predominios. Se inicia con una actividad general repartida en tejidos correspondientes al área extraembriolaria (islotes de Wolf, vesícula umbilical, hoja media), período tisular en que ya existe el predominio mieloide que persistirá a continuación, cuando ya esta producción se localiza en órganos, exclusivamente mieloideos hasta el tercer mes, en que en estos mismos órganos empieza la transformación linfoide de esta producción y sólo resta de la otra la posibilidad de reverdecer ante estímulos hematopoyéticos extraordinarios. Es decir, en hígado y bazo sólo queda un recuerdo de esta embrionaria función común, que permitirá quizás algún día la metaplasia mieloide en los casos de extrema hiperproducción.

La médula ósea, que inicia su actividad al tercer mes, no es la única producción mieloide en ese momento, porque el hígado, y he aquí un hecho que creo interesante señalar, persiste

en su producción mieloide hasta unos días después del nacimiento. Y es precisamente en estos días, en la encrucijada evolutiva de estos órganos, de los que posiblemente dependen tantos factores inmunitarios y proteinopoyéticos, en los que se nos plantea y desenvuelve estas crisis hemolíticas, en forma de oleadas u ondas, típicas de toda producción conjuntiva.

RESUMEN.

Se plantean las posibles relaciones feto-maternas en relación a las respectivas proteínamias, a la permeabilidad placentaria y a su posible influencia en la enfermedad hemolítica del recién nacido.

De los valores obtenidos mediante curvas electroforéticas en 64 muestras de sangre materna y placentaria, parece poder deducirse:

- 1.º Una hipo-albuminemia materna.
- 2.º Una hipo-globulinemia-beta en el recién nacido.

Se relaciona esta última con el período de "incubación" de las crisis hemolíticas, en las ictericias del recién nacido, así como con la especial mielopoyesis hepática que corresponde a esta edad.

BIBLIOGRAFIA

- J. GRASS.—Rev. Esp. Fisiol., 8, 1, 1952.
 BOTELLA LLUSIÀ.—Trat. de Obstetricia Nubiola. Labor, 1951.
 BOTELLA Y CASANOVA.—Medicina, 1945.
 MOORE, D. H.—J. Biol. Chem., 161, 21, 1945.
 L. CORONA.—Trat. quím. normal y pat. de la sangre, 1948.
 J. VILLAR CASO.—Las proteínas del plasma, 1950.
 E. POTTER.—Rh, 1947.
 CH. WUNDERLY.—La electroforesis sobre papel. Edit. Cient.-Méd., 1956.

SUMMARY

The possible foetus-mother relationships in connexion with protein levels, placental permeability and its possible influence on erythroblastosis neonatorum are reviewed.

The values obtained by means of electrophoretic curves in 64 samples of maternal and placental blood point to the following conditions:

1. Maternal hypoalbuminaemia.
2. Low beta-globulin levels in the newborn.

The second condition is related to the "incubation period" of haemolytic crises in jaundice of the newborn as well as to the peculiar myelopoesis in the liver associated with this disease.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wird auf das Verhältnis zwischen Mutter und Fetus in Bezug zu den respektiven Proteínamien, zur Permeabilität des Mutterkuchens und möglicherweise zu einem Einfluss auf die hämolysierende Krankheit des Neugeborenen hingewiesen.

Die elektrophoretischen Kurven von 64 Pro-

ben von mütterlichem Blut und But des Mutterkuchens ergaben Werte, welche folgende Schlussfolgerungen als wahrscheinlich zu lassen:

1. Eine Hypoalbuminämie der Mutter.
2. Eine Hypo-Betaglobulinämie des Neugeborenen.

Dieser letztere Zustand wird in Beziehung zum "Inkubationsstadium" der hämolitischen Krisen bei der Gelbsucht der Neugeborenen gebracht, sowohl als auch zu der besonderen hepatischen Myelopoiese die dieser Erkrankung entspricht.

RÉSUMÉ

On présente les possibles relations feto-maternelles vis à vis des respectives protéinamies, à la perméabilité placentaire et à leur possible influence dans la maladie hémolytique du nouveau né. Des valeurs obtenues au moyen de courbes électrophorétiques sur 64 échantillons de sang maternel et placentaire il résulterait:

1. Une hypo-albuminémie maternelle.
2. Une hypo-globulinémie-beta chez le nouveau né.

Cette dernière serait en rapport avec la période d'incubation des crises hémolytiques, dans les icères du nouveau-neé ainsi qu'avec la spéciale myélopoyèse hépatique qui correspond à cette maladie.

TETANIA CON HIPOPOTASEMIA EN LA ESTENOSIS PILORICA

A. SÁNCHEZ AGESTA y M. ESPINAR LAFUENTE

Clinica Médica Universitaria y Sección del C. S. I.C. Granada.

I

Se acepta generalmente que la relación que guarda la potasemia con la irritabilidad neuromuscular es de sentido contrario a la de la calcemia, según la conocida fórmula de equilibrio iónico¹:

$$\text{Irritabilidad neuro-muscular} = \frac{(\text{Na}^+) + (\text{K}^+)}{(\text{Ca}^{++}) + (\text{Mg}^{++}) + (\text{H}^+)}$$

De hecho, BARKER y cols.² han podido confirmar que una elevación brusca de la potasemia puede originar tetania, e igual observación hicieron ENGEL, MARTIN y TAYLOR³ al comprobar en dos enfermos que una tetania latente se convertía en manifiesta al aumentar el polasmo del suero, de donde dedujeron que la hip-