

## COMUNICACION CORTA

# Análisis multielemental de placenta humana de madres en diferentes grupos de riesgo por Fluorescencia de Rayos X Dispersiva de Energía

**Lucía González Núñez, Valentina T. González Cabrales,\* Juan J. Meitín Casas,\*\* Odelsa Ancheta Niebla,\*\*\* Fermín de la Fuente Calvo,\*\* \*Manuel Marrero Dedín,\*\* Raúl de la Osa Murgas\*\* y Yadira Morera Castro.**

Departamento de Anatomía Patológica Hospital Gineco-Obstétrico General "Eusebio Hernández", actualmente en Instituto de Nefrología "Abelardo Buch", Avenida 26 y Avenida de Independencia, Plaza, \*Departamento de Embriología, Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana "Victoria de Girón". \*\*Lab. Fluorescencia de Rayos X, Dirección de Química, Centro Nacional de Investigaciones Científicas. \*\*\*Lab. Farmacología, Dirección de Química, Centro Nacional de Investigaciones Científicas.

Recibido: 3 de mayo de 1999. Aceptado: 19 de noviembre de 1999.

Palabras clave: placenta, oligoelementos, elementos traza, desnutrición, fumadoras, hipertensión, FRXDE.  
Key words: placenta, oligo-elements, trace elements, undernourishment, smokers, hypertension, EDXRF

Muchos oligoelementos, especialmente metales, son esenciales para la realización de funciones específicas en el organismo, ya que actúan fundamentalmente como coenzimas en las reacciones metabólicas. Es por eso que la aplicación de técnicas para la determinación del contenido de éstos en aquel ha despertado gran interés dentro del campo de la medicina, especialmente después del descubrimiento de enfermedades producidas por trastornos genéticamente determinados por la concentración de elementos como el cobre (lo cual se conoce como enfermedad de Menkes<sup>1</sup>), así como los efectos nocivos a la salud determinados por su defecto o exceso en el organismo.<sup>2</sup>

El análisis de trazas de elementos en la placenta humana<sup>3</sup> es particularmente útil en el estudio de los efectos de la contaminación ambiental y el estado de nutrición o la incidencia de procesos patológicos sobre la función placentaria y las malformaciones congénitas, ya que el volumen de tejido que se requiere para estos estudios es poco (aproximadamente 1 % o menos del total del peso de la placenta).<sup>4</sup>

Se ha determinado que la deficiencia de zinc, cobre y hierro en la etapa prenatal puede ser de considerable importancia debido a que pue-

de causar retardo del crecimiento fetal, así como tener posible repercusión sobre el desarrollo postnatal.<sup>5</sup>

El zinc es esencial en la diferenciación y el crecimiento celular prenatal. Su deficiencia puede producir aborto espontáneo, inmadurez o dismadurez fetal y malformaciones congénitas entre otras. Diferentes autores han encontrado concentraciones plasmáticas de zinc significativamente menores en mujeres con toxemia severa cuando son comparadas con las de mujeres con embarazos normales.<sup>4</sup>

El hierro es esencial en la formación de la hemoglobina y en el desarrollo normal del cerebro.<sup>6</sup> Se ha demostrado que el cobre es fundamental en la mielinización postnatal del sistema nervioso central (SNC), en conejos.

La deficiencia nutricional de zinc, cobre y hierro exacerba la toxicidad del cadmio que llega al organismo por vía oral.<sup>7</sup> La principal fuente de cadmio es el cigarro. El nivel de cadmio en la sangre materna aumenta a razón de alrededor de 0,1 ng/mL por cada cigarro fumado por día. Además se conoce que el consumo de sólo un cigarro por día durante todo el embarazo disminuye el peso del feto.

El plomo es otro metal pesado muy tóxico tanto para humanos,

como para animales. Su toxicidad está particularmente relacionada con el SNC, el cual es sensible a dicho elemento. Además el SNC de niños, especialmente de fetos es más sensible que el de los adultos a los efectos dañinos del plomo.<sup>8</sup> Se plantea que puede atravesar las barreras placentaria y hematoencefálica y se ha reportado que el contenido sanguíneo subtóxico de plomo incrementa el riesgo de parto prematuro y ruptura prematura de membranas.<sup>9,6</sup>

Los habitantes de regiones industriales específicas, como aquellas dedicadas a la industria del aluminio presentan disminución de elementos esenciales como cobre, hierro y manganeso entre otros.<sup>10</sup>

El empleo de la Fluorescencia de Rayos X Dispersiva de Energía (FRXDE) ha probado ser muy eficiente y útil en la determinación de elementos traza en materiales biológicos.<sup>11</sup>

El propósito de este trabajo fue investigar el contenido de los elementos traza en el tejido placentario, proveniente del parto de madres sanas y otras en las cuales inciden algunos factores de riesgo como la desnutrición, la hipertensión o el hábito de fumar, mediante el empleo de la FRXDE.

Los grupos estudiados fueron clasificados en: embarazadas normales y grupos de riesgo (desnutridas, hipertensas y fumadoras)

#### Embarazadas normales

- Ausencia de patología materna, tanto relacionada con ella como independiente de ella.
- Ausencia de alteraciones hereditarias en la familia.
- Antecedentes obstétricos normales.
- Gestación simple, parto normal (eutócico).
- Controles de indicadores hemáticos, tensión arterial y ganancia en peso dentro de límites normales para el embarazo durante toda la gestación.
- Recién nacidos normales según examen pediátrico con desarrollo somático y neurológico adecuado para la edad gestacional y APGAR (valores de una escala de 10 que indican las características del neonato) igual o superior a siete, al minuto y a los cinco minutos.

#### Grupos de riesgo

- Mujeres desnutridas.

Las que se encontraban por debajo del 25 percentil, según las tablas de Berdasco,<sup>12</sup> del peso para la edad y talla en el momento de la captación y no presentaban otros procesos patológicos ni hábitos tóxicos.

- Embarazadas hipertensas.

Las que se encontraban según la clasificación de Pritchard,<sup>13</sup> dentro del grupo A<sub>1</sub>, o sea, la hipertensión provocada por el embarazo y no presentaban hábitos tóxicos ni otra patología asociada.

- Embarazadas fumadoras.

Las que consumían 15 cigarros o más por día, durante todo el embarazo y no presentaban otras alteraciones metabólicas o infecciosas.

La edad gestacional en todos los grupos estudiados fue de 38 a 40 semanas.

Inmediatamente después de expulsada la placenta, los fragmentos de tejido con un peso de 20 a 25 g se cortaron con hojas de bisturí de acero inoxidable en su zona intermedia, sin incluir el tejido correspondiente a las placas corial y decidual. Se lavaron tres veces con agua desionizada para eliminar el exceso de sangre en viales plásticos pretratados con ácido nítrico 10 % y agua desionizada y se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento.

Del grupo de placentas normales, se tomaron muestras de siete casos y de tres de cada uno de los grupos restantes.

Las muestras fueron descongeladas durante 45 min y desechada la parte líquida mediante decantaciones sucesivas. Posteriormente, fueron secadas bajo luz infrarroja por 8 h. Durante este proceso, a medida que fue secándose la muestra, se fragmentaba con utensilios de teflón y nitrógeno líquido.

Después fueron molidas y homogeneizadas en un molino de bola de ágata tipo planetario a 18 000 r/min durante una hora. Para la confección de las pastillas se utilizaron 250 mg del tejido homogeneizado. Éstas fueron confeccionadas en una prensa con un dado de acero inoxidable de 20 mm de diámetro a una presión de 200 kP.

El análisis de las muestras se hizo mediante FRXDE con un espectrómetro semiconductor (LABEN-CANBERRA) de 200 eV de resolución y con un analizador multicanal CANBERRA de 4096 canales acoplado a una microcomputadora 486.

Para el análisis de las pastillas se realizaron dos marchas experimentales: una, excitando los elementos ligeros con una fuente radioisotópica de Fe<sup>55</sup> de 740 mBq de actividad y otra, excitando elementos de número atómico intermedio (entre 26 y 38) con una de Cd<sup>109</sup> de 370 mBq. En ambos casos, el tiempo de medición fue de 7 200 s.<sup>14</sup>

Mediante un sistema computadorizado se almacenaron en soporte electrónico los espectros de las muestras y se realizó el análisis cuantitativo usando el programa PELOCALC<sup>15</sup>. Para el análisis se utilizó una muestra de referencia de pelo NIES No. 5.<sup>16</sup>

En el tratamiento estadístico de los resultados se utilizó la prueba ANOVA no paramétrica de U-Mann-

Whitney y el programa STATISTICS de Windows.

En los niños correspondientes a las placentas estudiadas fueron medidos los indicadores fundamentales que se utilizan para evaluar el estado de salud del recién nacido (Tabla 1). En el conteo de APGAR en el primer minuto, el más bajo fue el de las fumadoras seguido de las hipertensas, aunque dentro de lo normal (7-9). En el peso, el más bajo fue el de las fumadoras seguido por el de las desnutridas. En el caso de las fumadoras, además de las sustancias tóxicas que son inhaladas, se tienen otros factores como la disminución de la ingestión de alimentos.

No se encontraron diferencias significativas entre las muestras de los grupos de riesgo y las del normal (Tabla 2). Sin embargo, se encontró una disminución en los valores promedio de los contenidos de Fe y Zn en el grupo de las desnutridas, aunque para este caso se reporta un aumento en las concentraciones de Zn.<sup>17</sup>

En el grupo de madres hipertensas, se observó un ligero aumento del contenido promedio de Zn, lo cual coincidió con otros resultados,<sup>18</sup> cuyos autores plantean que el Zn junto a otros factores como el Cd, la progesterona y la metalotionina pueden ser copartícipes en el desarrollo de pre-eclampsia en el embarazo. En el caso del grupo de fumadoras, no se encontraron variaciones en los contenidos promedios respecto a los normales.

Debido a las características del método (no invasivo, simple, poco costoso) desarrollado, debe continuarse el estudio considerando un mayor número de casos para aclarar las variaciones detectadas y desarrollarlo para el uso diagnóstico y pronóstico, que pueda brindar valiosa información sobre el desarrollo postnatal y el estado nutricional de la madre.

Tabla 1. Características de los recién nacidos correspondientes a las placentas estudiadas.

Grupo	APGAR1'	APGAR 5'	Peso (g)	Talla	CC	CT
				(cm)		
Normales	9,0	9	3 217	49,8	34,0	32,7
Desnutridas	8,3	9	2 565	45,0	31,0	29,0
Hipertensas	7,5	9	3 008	49,0	33,4	31,6
Fumadoras	7,0	8	2 505	45,0	28,0	27,0

Los resultados son expresados como promedios.

CC Circunferencia cefálica. CT Circunferencia torácica.

Tabla 2. Contenido promedio de diferentes elementos analizados en los grupos de estudio.

Elementos	Normales N = 7	Desnutridas	Hipertensas N = 3	Fumadoras	Probabilidad (*)
P	21 373 ± 1 844	22 212 ± 2 930	19 690 ± 848	19 873 ± 831	0,757 3
S	10 807 ± 806	11 103 ± 1 100	10 653 ± 384	10 514 ± 314	0,964 8
Cl	6 276 ± 1 556	7 520 ± 1 843	7 132 ± 2 347	6 479 ± 1 529	0,353 8
K	2 525 ± 473	2 574 ± 274	2 475 ± 474	2 488 ± 279	0,964 8
Ca	2 353 ± 1 083	2 764 ± 1 251	1 832 ± 510	1 959 ± 495	0,757 3
Fe	315 ± 57	275 ± 47	350 ± 116	320 ± 58	0,452 9
Ni	0,4 ± 0,2	0,3 ± 0,08	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,376 7
Cu	8,2 ± 0,8	8,5 ± 0,67	8,7 ± 0,9	8 ± 0,6	0,401 3
Zn	77 ± 5	74 ± 5,3	80 ± 0,4	78 ± 0,2	0,894 6
Pb	1,2 ± 0,17	1 ± 0,2	1 ± 0,9	0,4 ± 0,1	0,774 8
Br	25 ± 8,8	29 ± 15	25 ± 12	24 ± 2	0,964 8

(\*) Normales con relación a las patológicas (desnutridas, hipertensas y fumadoras).

## BIBLIOGRAFIA

1. A.B. Kane y V. Kunay. Enfermedades ambientales y nutricionales, en: Patología estructural y funcional. 6ta Edición. McGraw-Hill Interamericana de España S.A. 444, 2000.
2. T. Ishimitsu, L. Tobian, K. Sugimoto and T. Everson. High Potassium Diets Reduce Vascular and Plasma Lipid Peroxides in Stroke-Prone Spontaneously Hypertensive Rats *Clin. Exp. Hypertens.*, 18, 659, 1996.
3. S. M. Husain and M. Z. Mughal. Mineral Transport Across the Placenta, *Arch. Dis. Child.*, 67, 7 Spec., 874, 1992.
4. A. Mancini and W.R. Blackburn. Regional Variations in the Levels of Zinc, Iron, Copper, and Calcium in the Term Human Placenta, *Placenta*, 8, 497, 1987.
5. W. Hazelhoff Roelfzema, A.M. Roelofsen and J.H.J. Copious Peereboom-Stegeman. Zinc and Cadmium Concentrations in Liver and Placentas of Rats: Are They Interrelated?, in: Trace element-Analytical Chemistry in Medicine and Biology. Vol 4. Walter and Gruyter and Co., Berlin, New York, 301-310, 1987.
6. J.R. Connor and S.L. Menzies. Cellular Management of Iron in the Brain Contents of Human Bio-substrates, *J. Neurol. Sci.*, 134 Suppl., 33, 1995.
7. H. Korpela, R. Loueniva Y. Irjankeiki y A. Kauppila. Lead and Cadmium Concentrations in Maternal and Umbilical Cord Blood, Amniotic Fluid, Placenta and Amniotic Membranes, *Am. J. Obst. G.*, 155, 1086-1089, 1986.
8. W.L. West, E.M. Knight, C.W. Edwards, M. Manning, B. Spulock, H. James, A. A. Johnson, U.J. Oyemade, O. J. Cole, O.E. Westnwy et al. Maternal Low Level and Pregnancy Outcomes, *J. Nutr. Suppl.*, 6, 981s, 1994.
9. M. Hernández Avila, L.H. Sanin, I. Romieu, E. Palazuelos, R. Tapia-Conyer, G. Olaiz, R. Rojas and J. Navarrete. Milk Intake during Pregnancy is Associated with Lower Maternal and Umbilical Cord Lead Levels in Postpartum Women, *Environ. Res.*, 74, 1997.
10. L. Zhuk, G.S. Khadzhibaeva, A.A. Kist, V.A. Kovaleva, I.N. Mikholskaia and E.A. Danilova. Effects of Discharges of the Aluminium Works on the Environment, *Gig. Sanit.*, 10, 12, 1991.
11. E. Contiero, M. Folini. Trace Elements Nutritional Status. Use of Hair As a Diagnostic Tool, *Biological Trace Element Research*, 40, 151, 1994.
12. A. Berdasco Gómez y J.M. Romero del Sol. Antropometría nutricional del adulto cubano menor de 40 años. II. Peso para la edad y peso para la talla en el sexo femenino, *Revista Cubana de Medicina*, 24, 712, 1985.
13. J.A. Pritchard. Hypertensive disorders in pregnancy. Williams Obstetrics 16th ed. Appleton-Century-Crofts, New York, 511-540, 1986.
14. J.J. Meitín, F. de la Fuente and A. Mendoza. Some Achievements on EDXRF Analysis in Cuba. Applications in Industry, Medicine and Environment, Proceedings of the European Conference on Energy Dispersive X-Ray Spectrometry, 1998 (EDXRS-98). Bologna, Italy, 7-12 Jun 1998. Ed. J.E. Fernandez and A. Tartari, Editrice Compositori, Italy, 351-355, 1999.
15. J.J. Meitín, M. Marrero y F. de la Fuente. Programa 'PELOCALC' para el análisis de Cabello humano por Fluorescencia de Rayos X Dispersiva de Energía, *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 19, 165, 1988.
16. National Institute for Environmental Studies (NIES). Japan Environment Agency. NIES Certified Reference Material No. 5 Human Hair, March 1985.
17. Lechtig, J.P. Habicht, M. Delgado, R. E. Klein, C. Yarbrough and E. Martorell. Effect of Food Supplementation During Pregnancy on Birth weight, *Pediatrics*, 56, 508, 1975.
18. J.C. Chilsom and C.R. Handorf. Trace Elements in Placentas: Zinc and Cadmium. *Clin. Exp. Hyper. in Pregnancy B4*, 283, 117, 1985.