

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS



CLAUDIO AMANDO WLADIMIR RAMIREZ RODRIGUEZ  
Guatemala, marzo de 1975

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS

"MADURACION PLACENTARIA EN LA DESNUTRICION  
PROTEINICO -CALORICA "

TESIS

Presentada a la Junta Directiva de la  
Facultad de Ciencias Médicas de la  
Universidad de San Carlos de Guatemala

por

CLAUDIO AMANDO VLADIMIR RAMIREZ RODRIGUEZ

en el acto de su investidura como

MEDICO Y CIRUJANO

Guatemala, marzo de 1975

**DEDICO ESTA TESIS**

**A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**A LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS**

**AL INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y  
PANAMA (INCAP)**

**AL HOSPITAL ROOSEVELT**

**AL HOSPITAL JACALTENANGO**

**DEDICO ESTE ACTO:**

**A MIS PADRES**

**A MI ESPOSA**

**A MIS HERMANOS**

**A MIS MAESTROS**

**A MIS AMIGOS**

## A GRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas e instituciones que con su colaboración y apoyo posibilitaron la realización de este trabajo:

- Al Dr. Oscar Pineda, Jefe asociado de la División de Química Fisiológica del INCAP, por su constante asesoría y apoyo material e intelectual; al Dr. Fernando Viteri, Jefe de la División Biomédica del INCAP, por su valiosa orientación en la realización e interpretación del trabajo; al Dr. Guillermo Arroyave, Jefe de la División de Química Fisiológica del INCAP por su apoyo en la realización material del estudio; y a todo el personal de la División de Química Fisiológica y de los laboratorios del Dr. Pineda y de Biomédica del INCAP.
- A las autoridades del Hospital Jacaltenango, en especial a la Dra. Dorothy Erickson, por facilitar la realización del estudio y cooperar en el desarrollo del mismo, y al personal de dicho centro por prestarme valiosas ayudas.
- Al Dr. Rodolfo Robles y al Hospital Herrera Llerandi, por facilitar la obtención de muestras de control.
- A las autoridades del Departamento de Obstetricia del Hospital Roosevelt, por permitir la recolección de muestras para análisis en etapa preliminar del trabajo.
- Y a todas las mujeres que participaron en el estudio, por su paciente colaboración.

## PLAN DE TESIS

	Página
1. INTRODUCCION	1
2. OBJETIVO	9
3. MATERIALES Y METODOS	11
4. RESULTADOS	29
5. DISCUSION	63
6. RESUMEN Y CONCLUSION	71
7. BIBLIOGRAFIA	73

# MADURACION PLACENTARIA EN LA DESNUTRICION PROTEINICO-CALORICA

## I. INTRODUCCION

La Desnutrición Proteínico-Calórica (DPC) es una causa bien definida de alteraciones del crecimiento en los individuos afectados por ella, ya que éstos muestran peso, talla y circunferencia cefálica menores que los valores aceptados como normales (79).

La magnitud del problema se aprecia por la frecuencia de DPC en la población de los países en desarrollo. Así, en Colombia 66.6% de la población menor de cinco años de edad sufre de algún grado de desnutrición (16). En Guatemala, en el nivel socioeconómico más bajo 72% de los niños menores de cinco años se encuentran en esas condiciones. De estos, 36% son de grado II o III en la clasificación de Gómez (86). Las consecuencias de tal situación sobre la economía del país son difíciles de cuantificar a pesar de que la deficiencia nutricional disminuye la capacidad de trabajo (76). La ingesta calórica inadecuada produce cambios adaptativos importantes (disminución en el consumo basal y máximo de oxígeno, primordialmente por alteraciones en la composición corporal). En este caso el trabajo se realiza con un gasto energético importante en relación con la ingestión de calorías, pudiendo llegar a producirse balance calórico negativo (76). Esta es la razón de la necesidad de un tiempo prolongado de descanso diario en las poblaciones malnutridas. Otro factor importante en la disminución de la capacidad de trabajo es la existencia de anemia. Se ha encontrado (81) que en sujetos anémicos la capacidad de trabajo físico se encuentra disminuida. Pruebas de capacidad física, como la Prueba de la Grada de Harvard están directamente relacionadas con el grado de anemia. Más interesante aun y con implicaciones de tipo económico, la suplementación calórica (76,82) o con hierro (15,80) mejora de manera significativa

los resultados de la Prueba de la Grada de Harvard y la capacidad de trabajo de quienes sufren las deficiencias mencionadas. Es importante señalar que la inactividad física per se conduce a una menor utilización del nitrógeno ingerido y a un aumento en las pérdidas de este elemento (77) por lo que se produce una disminución franca en la productividad a consecuencia de la desnutrición.

A pesar de que existen a la fecha estudios prospectivos con respecto a la influencia de la desnutrición sobre el desarrollo mental, no se conoce de manera exacta la influencia de aquella sobre éste. Los resultados preliminares (16) sugieren efectos adversos ya que niños malnutridos de menos de cinco años de edad presentaron alteraciones en seis aspectos generales del desarrollo mental.

No es de extrañar que condiciones especiales, como infecciones (47) o embarazo (39) vengan a agravar la desnutrición. Existe una interacción bastante clara entre nutrición e infección (63, 64, 78), encontrándose que la infección empeora el estado nutricional y que éste, a su vez, condiciona el desarrollo de infecciones, no sólo por las características ambientales que acompañan a la malnutrición, sino por alteraciones definidas en los mecanismos de defensa del huésped contra la infección. En efecto, se ha encontrado (57) disminución significativa en el consumo de oxígeno basal y durante fagocitosis por los leucocitos de personas desnutridas. La actividad de enzimas lisosomiales relacionadas con el proceso de fagocitosis y lisis bacteriana también se encuentra disminuida (13, 74, 75).

El proceso de formación del feto conlleva la utilización acelerada de nutrientes (9), razón por la cual se observan cambios en los patrones alimenticios de la mujer embarazada. En Guatemala (5), Arroyave y col. informan que mujeres embarazadas de bajo nivel socioeconómico presentan niveles bajos de vitamina A en suero, riboflavina en glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito, no habiéndose observado cambio en los patrones alimenticios, probablemente por

situaciones de tipo económico. Durante el embarazo hay disminución en la excreción de nitrógeno (54) lo que podría explicar el hecho que no se hayan encontrado niveles bajos de proteínas séricas.

Ganancia deficiente de peso durante el último trimestre, o las últimas 4 o 6 semanas del embarazo está relacionada con mayor incidencia de sufrimiento fetal y de anomalías placentarias gruesas (4). Este menor incremento está asociado directamente con menor peso al nacer (42).

Se ha encontrado una correlación positiva entre ingesta calórica durante el embarazo y peso del niño al nacer. Así, un grupo de madres con ingesta calórica diaria menor de 1800 calorías tuvo niños cuyo peso promedio fue 305 g. menor que los hijos de madres cuya ingesta fue mayor de 2200 calorías diarias ( $p < 0.05$ ). En este estudio (39) se encontró que hubo niños con peso satisfactorio (mayor de 3 Kg.) en 78% de los embarazos de mujeres con ingesta calórica mayor de 2200 calorías, lo que sucedió sólo en 38% del grupo de mujeres con ingesta menor de 1800 calorías diarias. No se encontró relación similar en cuanto a la ingesta total de proteínas, o de proteínas de origen animal, vitamina A, hierro, riboflavina y peso al nacer. Un grupo similar de mujeres embarazadas recibió un suplemento calórico y proteínico (40) durante la gestación. Ochenta y cinco por ciento de las mujeres suplementadas tuvo niños con peso mayor de 3 Kg., en comparación con 50% en las no suplementadas. El peso promedio de los niños varió de manera similar.

La morbilidad durante el embarazo también afecta el peso de la progenie. En un estudio realizado en cuatro comunidades rurales de Guatemala (41) se encontró que sólo 14% de los niños hijos de madres que sufrieron más de 11 días de enfermedad durante el embarazo tuvieron peso adecuado al nacer, en comparación con 78% en el grupo de madres con menos de cinco días de enfermedad durante el embarazo. Los autores concluyen que este efecto probablemente se produjo a través de disminución en la ingesta calórica, la que

se observó durante los días de enfermedad.

Se han informado otros efectos directos de la DPC durante el embarazo y la lactancia sobre la progenie: deficiencias en la función excretoria renal (filtración glomerular, capacidad tubular secretoria máxima, habilidad para excretar una carga hídrica, respuesta a hormona antidiurética) (1), cambios a nivel hepático en animales de experimentación (desorganización de las organelas intracelulares (22), cambios en el peso del hígado y alteraciones en la actividad y patrones de maduración de monoamino oxidasa, glucosa-6-fosfatasa y fosfoserina fosfatasa hepáticas (23) así como depresión en el pozo metabólico de aminoácidos, especialmente los esenciales.

Es muy importante definir durante qué época del desarrollo se produce la deficiencia nutricional, ya que la gravedad de las alteraciones depende de la relación temporal existente entre ambos (20, 83). Por ejemplo, en el hombre el crecimiento cerebral se realiza de manera acelerada durante el último trimestre del embarazo y continúa hasta el segundo año de vida. Un "stress" nutricional impuesto durante este período será de consecuencias más serias que durante un período diferente, pudiendo resultar en menor número de células en el cerebro (61) así como en cambios en el metabolismo de catecolaminas a nivel cerebral (6, 65). Aunque el significado funcional de estas alteraciones no está totalmente definido se ha sugerido un efecto aditivo de la restricción dietética durante embarazo y lactancia sobre ciertas pruebas del comportamiento en ratas (67). La restricción de ácidos grasos esenciales se ha asociado con morbilidad alta en animales de experimentación (69).

Los cambios celulares inducidos por la desnutrición aparecen más tempranamente en la placenta que en el feto - (12). Se ha descrito disminución neta en la masa placentaria, vellosoidades periféricas y masa trofoblástica y fibroblástica y mayor frecuencia de infartos (37) en las placentas provenientes de mujeres desnutridas, así como disminución en el

contenido total de DNA (12, 38), lo que reflejaría menor número de células a ese nivel. No se ha estudiado la repercusión funcional que tengan estos cambios placentarios sobre el feto, aunque se ha encontrado disminución en la captación de oxígeno por la placenta en la desnutrición (72).

Durante los últimos años se han descrito varias pruebas que tienen por objeto medir el funcionamiento de la unidad feto-placentaria (87). Algunas de ellas no son adecuadas para determinar el estado del feto en un momento dado, pero si pueden ser utilizadas para medir el funcionamiento de la placenta. Entre ellas tiene importancia la determinación de la actividad en el plasma de ciertas fracciones enzimáticas producidas por la placenta.

Una de estas fracciones es la fosfatasa alcalina placentaria (10). Se sabe que la actividad de fosfatasa alcalina (E.C. 3.1.3.1., fosfohidrolasa de monoesteres ortofosfóricos) en el plasma o suero es la suma de la de varias isoenzimas (24). La actividad aportada por cada una de ellas puede ser separada por una variedad de métodos, los cuales incluyen: a) exposición al calor a una temperatura adecuada, ya que en el humano la fracción producida por la placenta es resistente al calor (55), no así en otras especies (43, 46); b) inhibición de la actividad enzimática por exposición a ciertos aminoácidos, especialmente fenilalanina (26); c) combinaciones de ambos procedimientos (29); d) exposición a neuraminidasa, pues la fracción placentaria es una glicoproteína con residuos libres de ácido siálico y, por lo tanto, es susceptible al ataque por ésta (25); e) procedimientos más sofisticados como electroforesis en acetato de celulosa (60) o purificación de la fracción enzimática y determinación de sus características bioquímicas (14, 27).

Se ha determinado que la actividad de la fracción placentaria también es la suma de la de varias isoenzimas (70).

Desde hace más de una década (28) se ha venido informando elevación en la actividad de fosfatasa alcalina duran-

te el embarazo en el suero o plasma de mujeres embarazadas. Aún sin hacer distinción entre fosfatasa alcalina placentaria y las otras isoenzimas se encontró elevación progresiva en la actividad sérica desde el segundo trimestre del embarazo (44) hasta el parto. Con el uso de la inactivación por el calor (49) se evidenció una relación más estrecha con el funcionamiento de la placenta (53) encontrándose desviaciones en el patrón normal de aparecimiento de la isoenzima placentaria en casos de anomalías de la función de la placenta (21, 68), llegándose a considerar que la determinación de la actividad de fosfatasa alcalina termoestable es buen reflejo del funcionamiento y estado de madurez de la placenta (58). Se ha encontrado correlación significativa entre actividad de fosfatasa alcalina termoestable y excreción urinaria de estrógenos en 24 horas, una medida aceptada de integridad de la unidad feto-placentaria (18). No se detecta actividad de fosfatasa alcalina termoestable en niveles apreciables en sangre del cordón en niños normales (50) o prematuros (36) ya que la enzima no atraviesa la placenta.

Laga y col. (38) compararon un grupo de mujeres embarazadas guatemaltecas mal nutridas con un grupo de Boston bien nutridas encontrando una tendencia a menor actividad de fosfatasa alcalina termoestable en las primeras.

Otra fracción enzimática producida por la placenta es la oxytocinasa (E.C. 3.4.1.10, hidrolasa de alfa-aminopeptido aminoácido) (71) que funciona como una cistina aminopeptidasa (56) y cataliza la degradación de oxytocina (11). No se conoce exactamente el papel fisiológico que juegue la enzima en el organismo materno. Sin embargo, su patrón de aparición se ha encontrado alterado en casos de disfunción placentaria (7) por lo que su determinación ha sido utilizada como una medida de funcionamiento placentario durante el embarazo y el parto (3, 34) si bien no se correlaciona adecuadamente con el pronóstico fetal, como lo hace la excreción urinaria de estrógenos en 24 horas (19).

En vista de toda la información existente, es importan-

te investigar el efecto de la Desnutrición Proteínico-Calórica (DPC) sobre la maduración de la placenta ya que alteraciones en ese proceso podrían ayudar a explicar el mecanismo por el cual las deficiencias nutricionales producen los efectos observados en la descendencia.

## 2. OBJETIVO

El propósito del presente trabajo fue estudiar el proceso de maduración placentaria en un grupo de mujeres con Desnutrición Proteínico-Calórica (DPC) durante el embarazo. Para este propósito se utilizaron como parámetros de función placentaria la determinación de la actividad de oxytocinasa y fosfatasa alcalina termoestable, tanto en plasma a intervalos regulares como en homogenizados de tejido placentario. Como indicadores del estado nutricional del grupo estudiado se utilizaron: medición de la ganancia de peso durante el embarazo, niveles de hemoglobina, hematocrito, proteínas séricas, hierro y folatos.

### 3. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Pacientes:

Se estudiaron prospectivamente 17 pacientes con 14 o más semanas de embarazo seleccionadas de la consulta prenatal del Hospital Jacaltenango, situado en el municipio de Jacaltenango, Huehuetenango, Guatemala, a 1400 metros snm.

Las pacientes fueron seleccionadas en base a historia dietética sugestiva de deficiencia en la ingesta de calorías y proteínas y con hallazgos de examen físico acordes con la historia dietética.

Las pacientes fueron controladas longitudinalmente durante el transcurso del embarazo por medio de visitas regulares a la clínica en las cuales se realizó examen obstétrico prenatal y se investigó la evolución del embarazo. Se trató de estimular la asistencia con el objeto de medir cambios de peso durante el embarazo, evaluar alteraciones en el patrón alimenticio, detectar tempranamente complicaciones del embarazo y obtener muestras de sangre para análisis a intervalos regulares. Durante el estudio las pacientes recibieron diariamente preparados multivitamínicos proporcionados por el centro. (Tabla I).

TABLA 1

## Vitaminas

	Períodos (*)		
	1	2	3
A (U. USP)	3500	4500	4000
D (Unidades)	400	400	400
C (mg.)	60	80	75
B-1 (mg.)	0.8	1.3	1.2
B-2 (mg.)	1.3	1.8	1.5
B-6 (mg.)	1.0	2.0	1.2
B-12 ( $\mu$ g.)	2.5	5.0	3.0
Ácido pantoténico (mg.)	5.0	10.0	5.0
Niacinamida (mg.)	14	17	15
E (U.I.)	-	10	-
Biotina ( $\mu$ g.)	-	-	40
Ácido Fólico ( $\mu$ g.)	50	-	-
Hierro (mg.)	-	-	12

(\*) 1=28/2 a 4/4/74. 2=11/4 a 30/5/74. 3=6/6 a 30/7/74

En cada visita se determinó presión arterial y peso de la paciente, a horas similares, por la misma persona y sin cambios apreciables en la técnica utilizada.

Los datos ya mencionados se registraron en una ficha diseñada para el efecto, en la que se consignó además cambio en tamaño del útero, determinado por la altura del fondo uterino sobre el borde superior del pubis, en centímetros, medido con cinta métrica y técnica estandarizada. La edad de embarazo se calculó a partir de estos datos y del tiempo de amenorrea, el cual no se logró obtener en todos los casos. Toda la información fue además trasladada a un cuaderno de registro.

El peso y la talla se registraron independientemente por el autor en el momento de incluir a la paciente en el estudio.

De las 17 pacientes estudiadas, 14 eran indígenas y 3 ladinas, siendo todas originarias de la localidad. Dos pacientes incluidas en el estudio no concurrieron a las visitas de seguimiento. Dos pacientes más aun se encontraban embarazadas al momento de concluir la investigación en la localidad. Las restantes 13 pacientes fueron ingresadas al Hospital Jacaltenango al presentarse con síntomas y signos de trabajo de parto activo. Se les atendió el parto en dicho centro, sin presentarse complicaciones. Los datos sobre parto y puerperio hospitalario se registraron como los precedentes. Los recién nacidos fueron examinados, pesados y medidos inmediatamente después del parto.

### 3.2. Obtención, almacenamiento y transporte de las muestras para análisis

#### a) Muestras de sangre:

Se obtuvieron muestras de sangre por punción de vena antecubital utilizando tubos Vacutainer (Becton, Dickinson and Company) de 10 ml., estériles y heparinizados al ingreso de la paciente al estudio y a intervalos que oscilaron entre 2 y 4 semanas (promedio cada 3 semanas). Se colectaron un total de 67 muestras de sangre por este procedimiento, dando un promedio de 3.9 muestras por paciente. Están incluidas en este número las que se obtuvieron durante el trabajo de parto.

Se tomaron muestras de sangre fetal por punción de la vena umbilical del lado placentario inmediatamente después de ligar el cordón y antes de desprenderse la placenta (73), utilizando material similar al empleado con las muestras de las mujeres embarazadas. Ambos tubos se rotularon con un código que incluía 4 cifras: identificación del Hospital, procedencia de la muestra (madre o niño), número del caso y número de la muestra en ese caso en particular.

En un caso no se obtuvo muestra de sangre del cordón;

en otros dos, éstas se manejaron inapropiadamente y no fue posible utilizarlas en los análisis.

Las muestras de sangre fueron procesadas dentro de las primeras 3 horas después de obtenidas, de la siguiente manera: bajo condiciones estériles se transfirieron 2 ml. de sangre total a tubos estériles, libres de hierro, y se congelaron. Se determinaron hemoglobina y hematocrito, separándose el plasma por centrifugación a 500 rpm en una centrífuga clínica. Las células fueron descartadas y el plasma se colocó en tubos libres de hierro rotulados de manera similar a los iniciales, los que fueron cerrados herméticamente y congelados. Las muestras fueron trasladadas al ser posible a los laboratorios de la División de Química Fisiológica del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), donde fueron almacenadas a -20 grados centígrados hasta su análisis final, realizado de 6 meses a un año después de obtenidas. El transporte se realizó en hielera hermética para evitar descongelar las muestras.

#### b) Placentas:

Inmediatamente después del alumbramiento, la placenta fue separada y secada con toallas de papel con el objeto de extraer de ella la mayor cantidad posible de sangre. Utilizando pinzas y tijeras de disección se separaron las membranas y el cordón del resto del tejido placentario, el cual se secó nuevamente con toallas de papel y se pesó con una aproximación de un gramo. La muestra se cortó en pequeños pedazos que se colocaron en una moledora eléctrica de carne, obteniéndose un homogenizado grueso, del que se separaron 75 g., que se guardaron en una bolsa de polietileno rotulada de manera similar a la descrita para las muestras de sangre; la bolsa se cerró herméticamente (sellada) y se almacenó congelada. Ulteriormente, las muestras fueron trasladadas al INCAP y procesadas de la siguiente manera: Cuatro gramos de este homogenizado crudo fueron pesados y colocados en la copa menor de un homogenizador Omni-Mixer (Ivan Sorvall, Inc., Norwalk, Conn.), agregándose 15 ml.

de agua destilada helada. Con la copa sumergida en hielo el tejido se homogenizó a alta velocidad (marca 9) durante 3 minutos. El homogenizado así obtenido se llevó a un volumen final de 20 ml. utilizando agua destilada helada, y se mezcló nuevamente a alta velocidad por 3 minutos. Algunas de 2 ml. de este homogenizado (concentración: 20%) fueron guardadas en viales rotulados convenientemente. Se diluyeron 2.5 ml. a un volumen final de 10 ml. (concentración: 5%) con agua destilada helada y se guardaron en viales rotulados. Estas muestras se almacenaron congeladas a -20 grados centígrados hasta realizar los análisis.

#### 3.3. Análisis de las muestras:

##### a) Hemoglobina:

Se utilizó el método de cianometa hemoglobina (17), que utiliza ferricianuro de potasio para oxidar la hemoglobina a cianometahemoglobina, la concentración de la cual se mide espectrofotométricamente. El reactivo (Drabkin) fue guardado en botellas de polietileno hasta su utilización. Los análisis se realizaron agregando 20 ml. de sangre a 5 ml. de este reactivo, agitando inmediatamente y leyendo la absorbancia a 540 nm. en un colorímetro Bausch and Lomb, modelo Spectronic 20, comparándola con la de una curva standard (St. utilizado: Hycel, lote P-1205) previamente preparada. Se utilizó una batería de automóvil como fuente de energía para el colorímetro. El coeficiente de variación de este método en esas condiciones fue de 1.12%. Las muestras se analizaron en duplicado.

##### b) Hematocrito:

Se determinó el volumen de células empacadas utilizando tubos capilares de 75 por 1.5 mm., heparinizados. Se empleó la sangre colectada en el tubo Vacutainer. Los tubos capilares se centrifugaron a 5000 rpm durante 10 minutos en una Microcentrífuga. Se anotó el porcentaje del vo-

volumen sanguíneo aportado por las células empacadas (30).

c) Proteínas:

Se determinó refractométricamente la concentración de proteínas totales en plasma utilizando un refractómetro modelo TS (American Optical Instrument) (62). El método tiene un coeficiente de variación para la lectura de 1.13%, determinado en las condiciones en que se realizó el ensayo de las muestras.

La concentración de proteínas en el homogenizado placentario (5%) se midió por una modificación del método descrito por Hartree (32). Este método tiene la ventaja de mantener una relación directa entre absorbancia y concentración de proteína. La modificación consiste en omitir el primer paso (adición de agua) ya que se utiliza el mismo volumen para todas las muestras. Las lecturas se compararon contra una curva standard preparada con Albúmina Bovina, fracción V. (Sigma Chemicals Co.); la absorbancia se midió a 750 nm. en un espectrofotómetro Gilford modelo 2000.

d) Hierro:

Al momento de realizar los análisis enzimáticos en las muestras de plasma, se separó 1 ml, el cual se colocó en un vial libre de hierro utilizando pipeta de Pasteur también libre de hierro. Las muestras fueron congeladas y luego trasladadas al laboratorio de la División Biomédica del INCAP, donde se determinó concentración de hierro, capacidad total de ligar hierro (CTLH) y porcentaje de saturación de transferrina. Se utilizó el método de Ramsay (59).

e) Folatos:

Las muestras de 2 ml. de sangre completa, estéril, que fueron separadas al inicio también se trasladaron al laboratorio de la División Biomédica del INCAP donde se determinó la concentración de folatos por el método descrito por Hebert

y col. (35).

f) Oxytocinasa:

Se determinó la actividad de oxytocinasa en las muestras de plasma y en Homogenizados placentarios al 5% utilizando el método descrito por Small y Watkins (66), el cual se basa en la formación de p-nitroanilina a partir de un substrato sintético (L-cystina di-p-nitroanilida).

Con el objeto de estandarizar la concentración de substrato en las mezclas de reacción durante los análisis, se determinó su coeficiente de absorción milimolar y su aspectro de absorción. Para el efecto se disolvieron  $5 \times 10^{-2}$  milimoles de substrato en un volumen final de 200 ml. con agua destilada, y luego se efectuaron diluciones de esta solución. Se determinó la absorbancia de las diluciones y a partir del promedio de estos datos se calculó el coeficiente de absorción milimolar, dividiendo las absorbancias entre las concentraciones conocidas. Se determinó así que el Coeficiente de Absorción Milimolar de L-cystina di-p-nitroanilida a un paso de luz de 1 cm. y a 370 nm. es de  $2.974 \pm 0.009$ . Se utilizó 370 nm. porque el espectro de absorción del substrato mostró un máximo en dicha longitud de onda.

Las soluciones conteniendo el substrato fueron leídas a 370 nm. antes de su utilización en los ensayos y comparadas con las lecturas descritas previamente. Se determinó así la concentración de substrato en cada solución y se estandarizó esta en 0.45 mmolar para los análisis.

Reactivos:

- Buffer de fosfato, 0.15 M, pH 7.4, con 0.3% v/v Triton X-100.
- Substrato, aproximadamente 5 milimolar en agua, con 2 gotas de ácido clorhídrico 4 N.

c) Substrato más buffer, 0.45 mmolar.

Se estableció el volumen de plasma a utilizar en los análisis realizando un ensayo en el que se mantuvo constante la concentración de substrato y se varió el volumen de plasma utilizado. Se encontró una relación lineal entre absorbancia y volumen de plasma entre 0.025 y 0.2 ml. (Figura 1), por lo que se seleccionó 0.1 ml. para el siguiente ensayo, en el cual se varió la concentración de substrato (Figura 2). Con base en esta curva, se seleccionó 0.45 mmolar para el estudio, ya que se observó precipitación del substrato por arriba de 0.5 mmolar. Un trazado de Lineweaver-Burke reveló  $K_m$  igual a 0.2 mmolar en las condiciones del ensayo.

Utilizando un procedimiento similar, se fijaron las condiciones del ensayo en homogenizado de placenta (Figuras 3 y 4). Se seleccionó 0.33 milimolar como concentración de substrato y 0.1 ml. de homogenizado al 5% como el volumen de muestra a usar. Las condiciones para el ensayo fueron, entonces, iguales a las del ensayo en plasma, excepto por la concentración de substrato.

El procedimiento consistió en colocar 2.5 ml. de buffer con substrato (0.45 mmolar) para cada tubo y agregar 0.1 ml. de la muestra (plasma u homogenizado). Se incubó a 37° C por una hora y luego se detuvo la reacción con 0.4 ml. de ácido clorhídrico 0.33 M. Se preparó un blank para cada muestra de la siguiente manera: Se incubaron 2.5 ml. de buffer con substrato al igual que las muestras. Al finalizar la incubación se agregó 0.4 ml. de ácido clorhídrico 0.33 M y 0.1 ml. de la muestra. Las muestras se leyeron contra el blank en el espectrofotómetro descrito a 380 nm.

La actividad enzimática se calculó a partir de la absorbancia neta de la muestra utilizando el coeficiente de absorción milimolar determinado previamente. Se definió una milíunidad internacional (mlu) como la cantidad de enzima capaz de generar un nanomol de p-nitroanilina a partir de la cystina di-p-nitroanilida por minuto por ml. de muestra (66).

Figura 1. ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA EN PLASMA

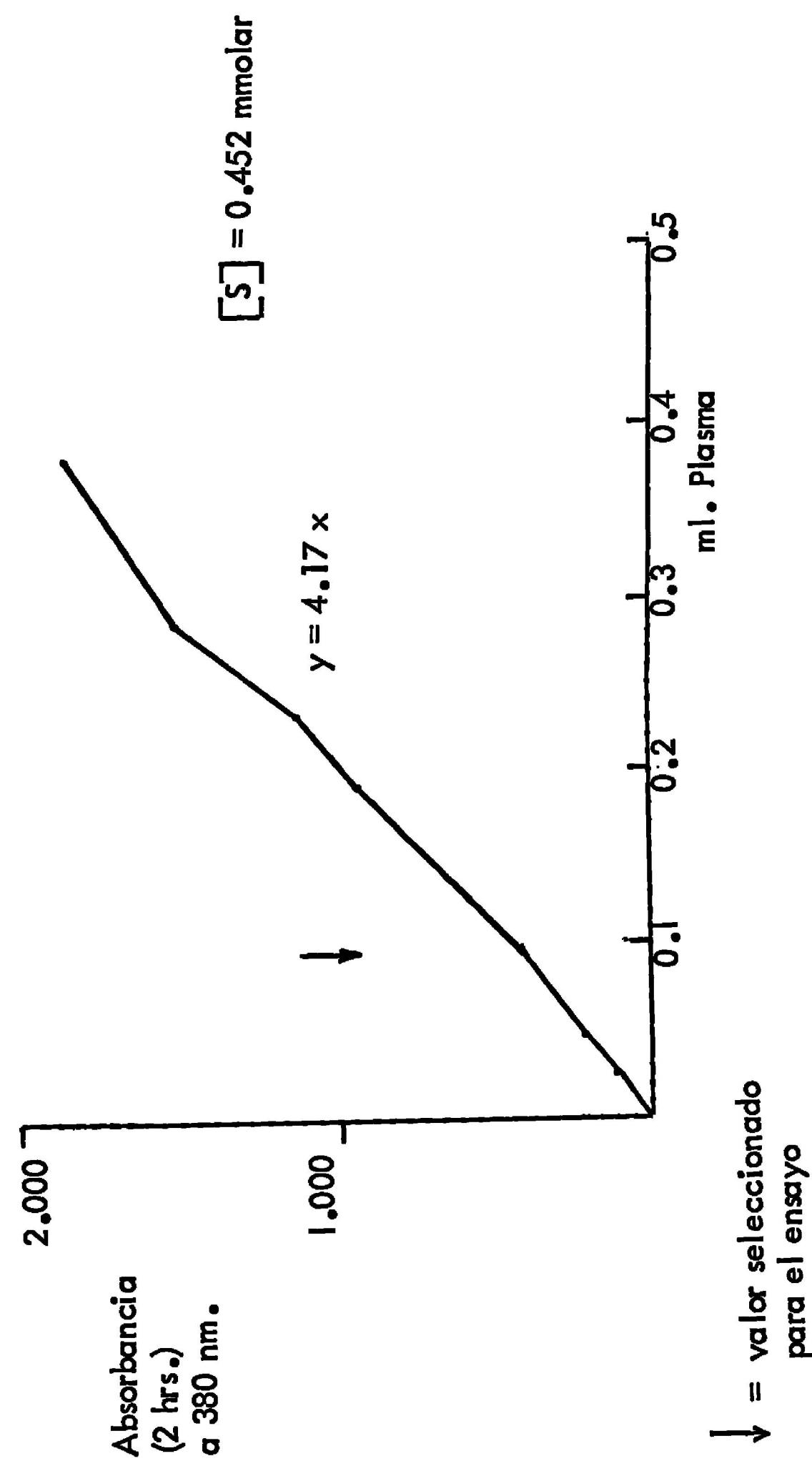


Figura 2. ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA EN PLASMA

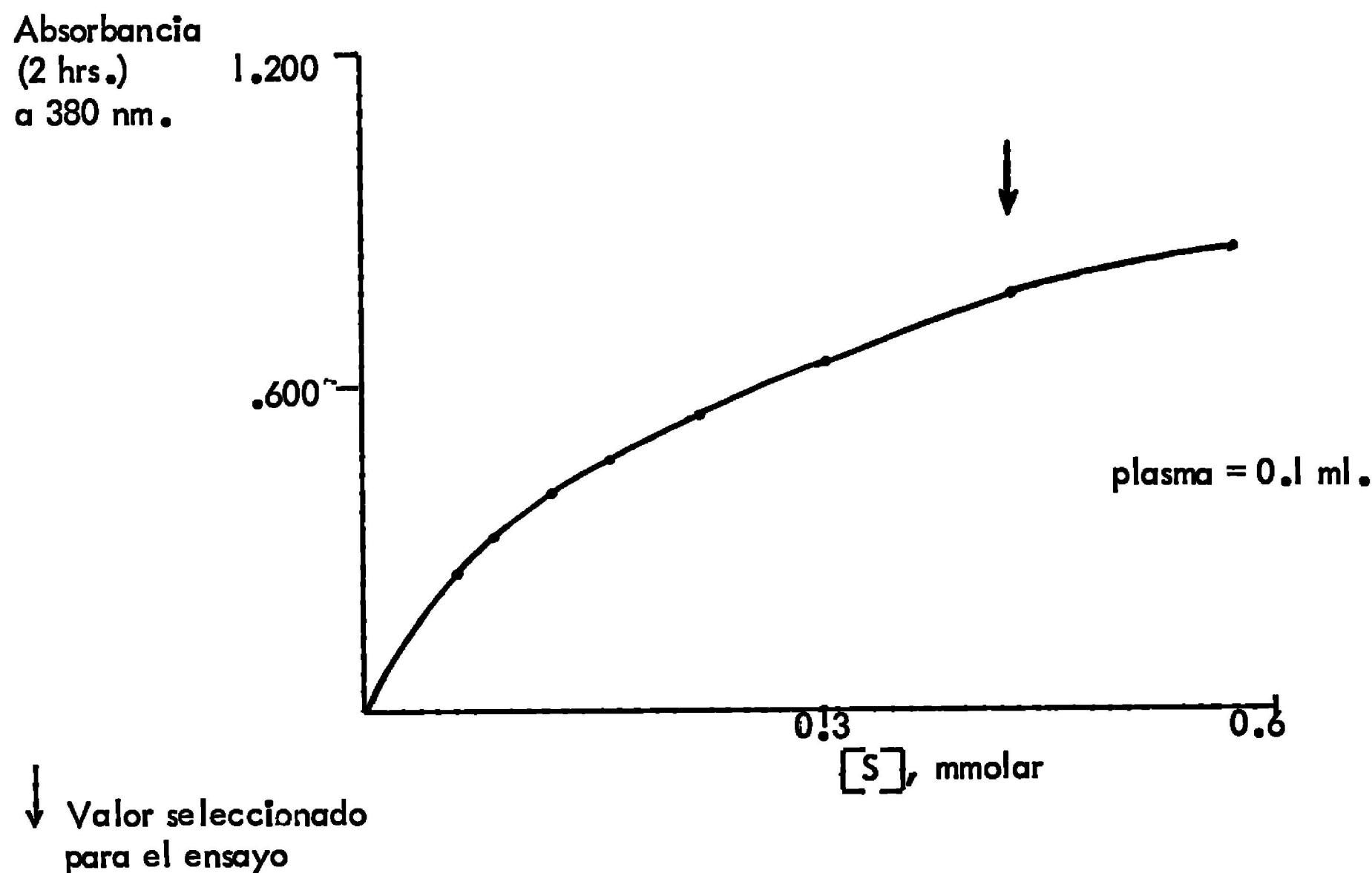


Figura 3. ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA EN HOMOGENIZADO DE PLACENTA AL 5%

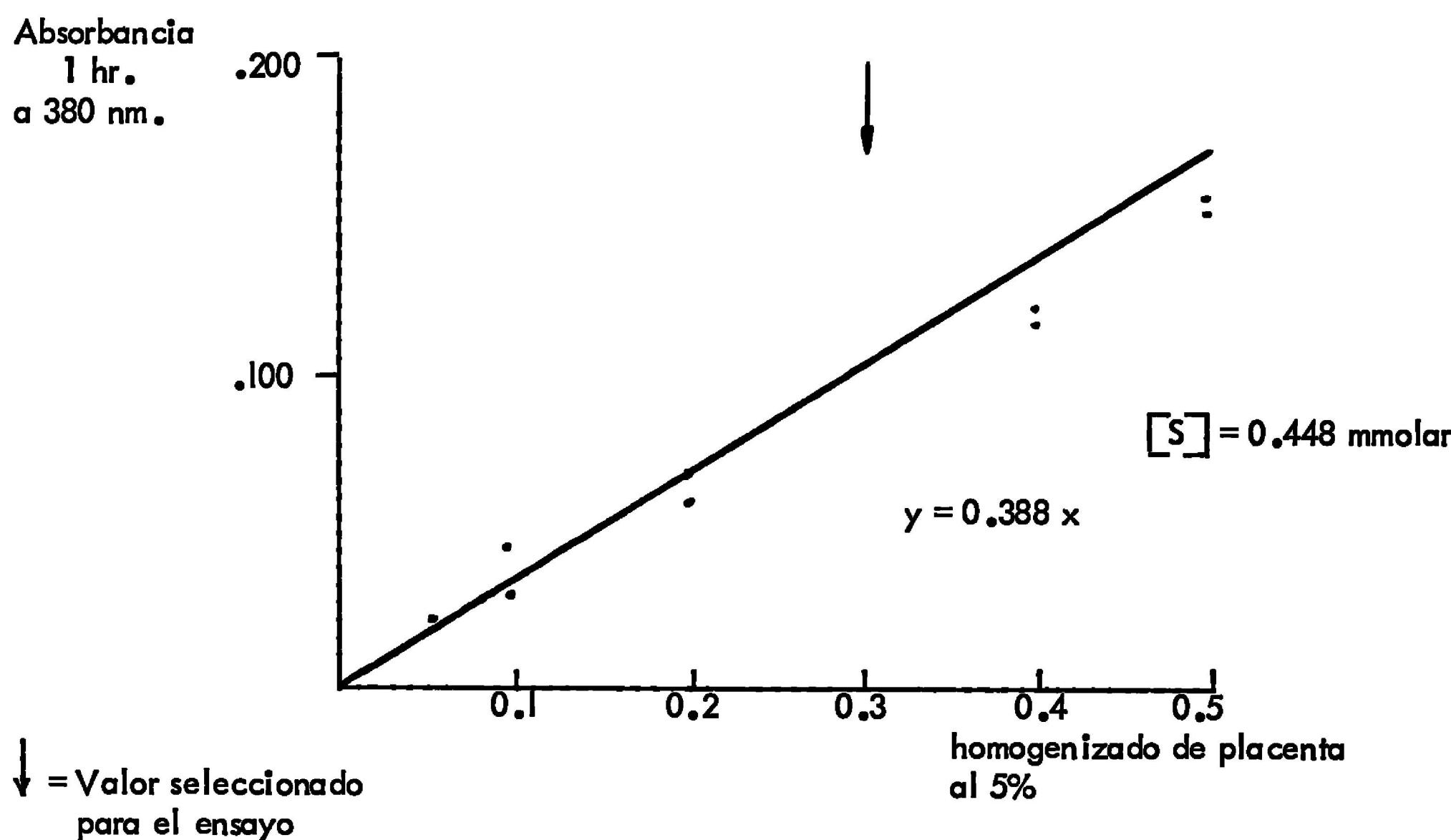
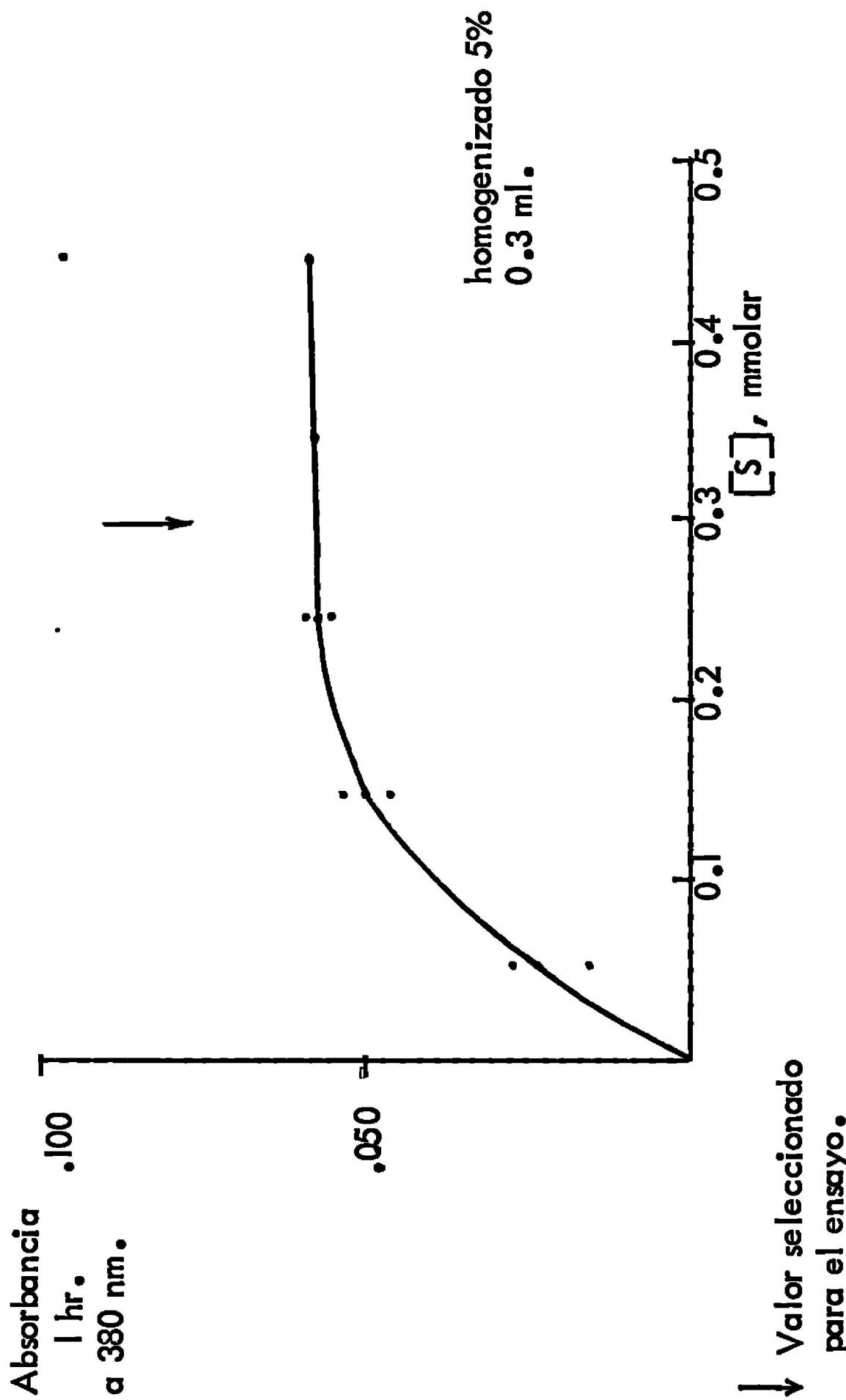


Figura 4. ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA EN HOMOGENIZADO DE PLACENTA AL 5%



## g). Fosfatasa alcalina:

g.1. Muestras: Se utilizaron las muestras de plasma congeladas y una dilución en agua al 0.5% del homogenizado de placenta, preparada inmediatamente antes de los análisis.

g.2. Inactivación por calor: Se ensayó la actividad de fosfatasa alcalina termoestable en muestras tratadas de la siguiente manera: 250 ml. fueron colocados en un tubo de 7 mm. de diámetro, el cual se introdujo en un baño con temperatura constante de 65°C durante 5 minutos (29). Se controló la temperatura durante todo el tiempo de incubación para no permitir fluctuaciones de más de 0.5°C.

g.3. Método utilizado: Se usó el método cinético descrito por Hausamen y col. (33), basado en la liberación de p-nitrofenol a partir de p-nitrofenil fosfato. La reacción se llevó a cabo en celdas con un paso de luz de 1 cm., mantenidas a 30°C. Se tomaron lecturas cada 5 segundos de la absorbancia a 405 nm. utilizando para esto un espectrofotómetro Gilford modelo 2000 (Gilford Scientific Instruments, Co.).

## g.4. Reactivos:

- Buffer de Clorhidrato de Dietanolamina, 1.0 mM pH 9.8 conteniendo  $5 \times 10^{-4}$  M  $MgCl_2$ .
- Substrato: p-nitrofenil fosfato  $2.1 \times 10^{-1}$  M

g.5. Condiciones del ensayo: Se estandarizaron de manera similar a lo descrito para oxytocinasa, tanto para plasma como para homogenizado de placenta. Se fijó inicialmente una concentración de substrato y se varió el volumen de la muestra. Luego, se mantuvo un volumen de muestra constante y se varió la concentración de substrato (Figuras 5 a 8). - Se escogieron para los análisis concentraciones de substrato adecuadas para mantener una cinética de orden cero.

Figura 5. ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN PLASMA

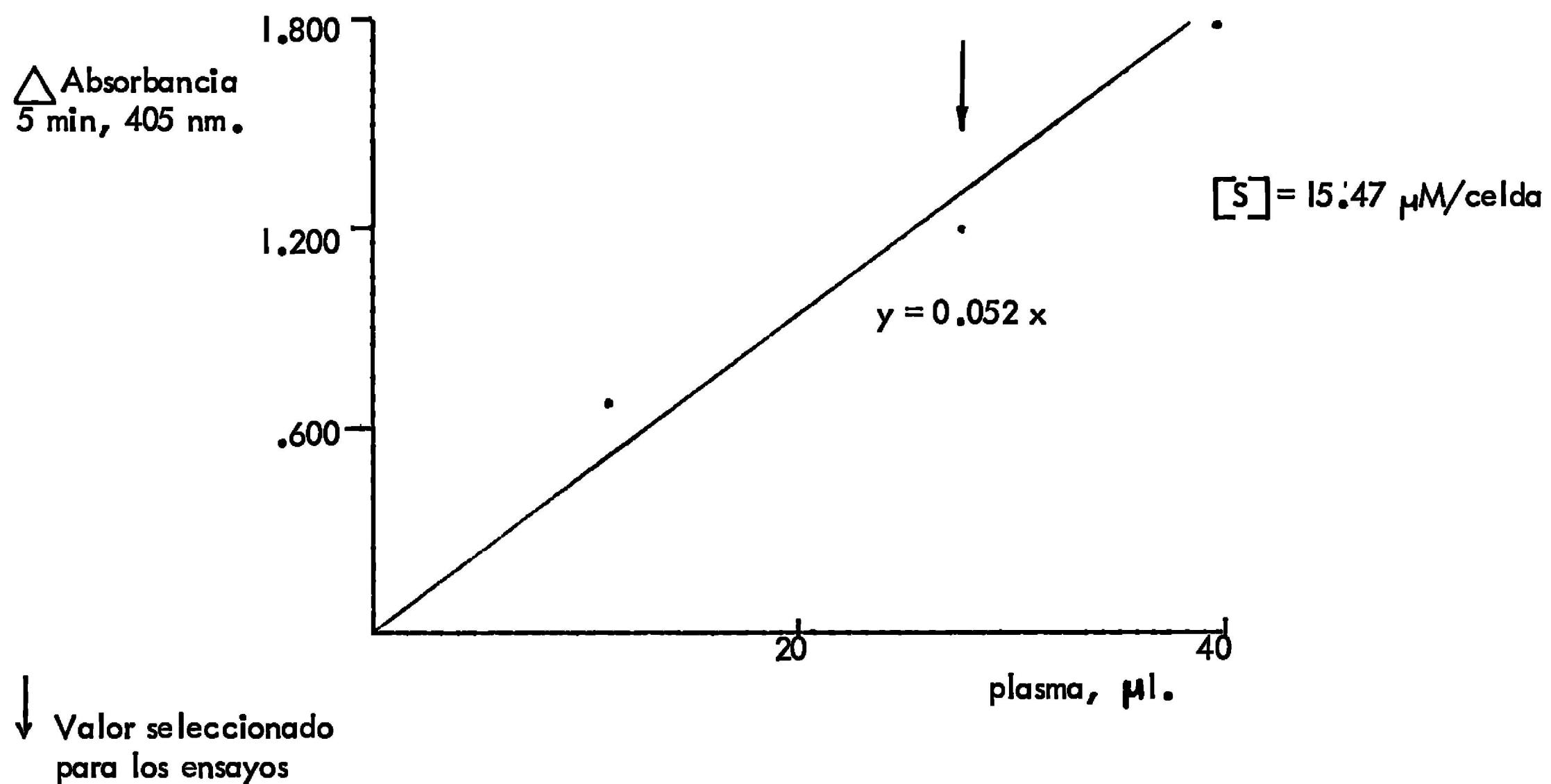


Figura 6. ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN PLASMA

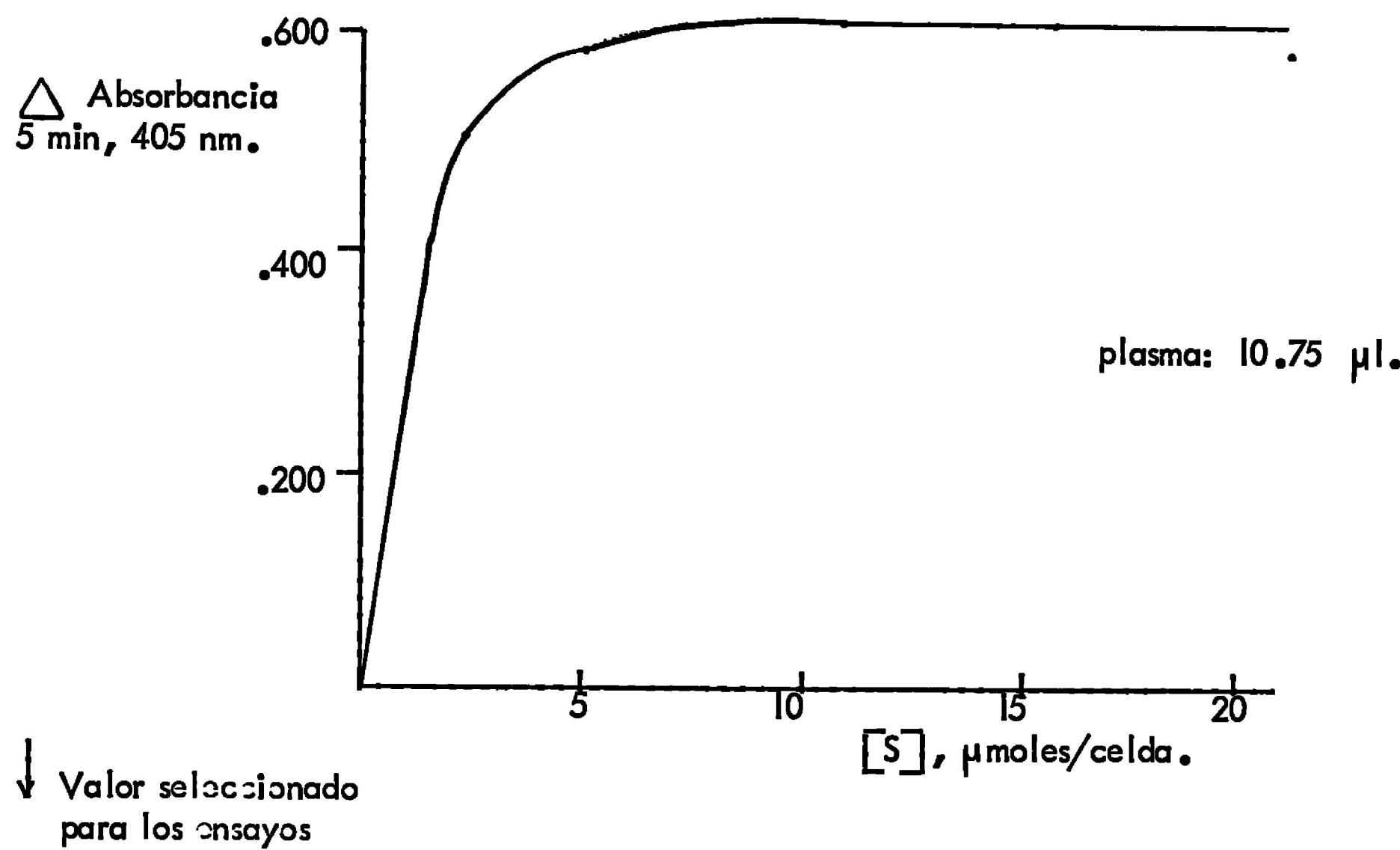


Figura 7. ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN HOMOGENIZADO DE PLACENTA AL 0.5%

26

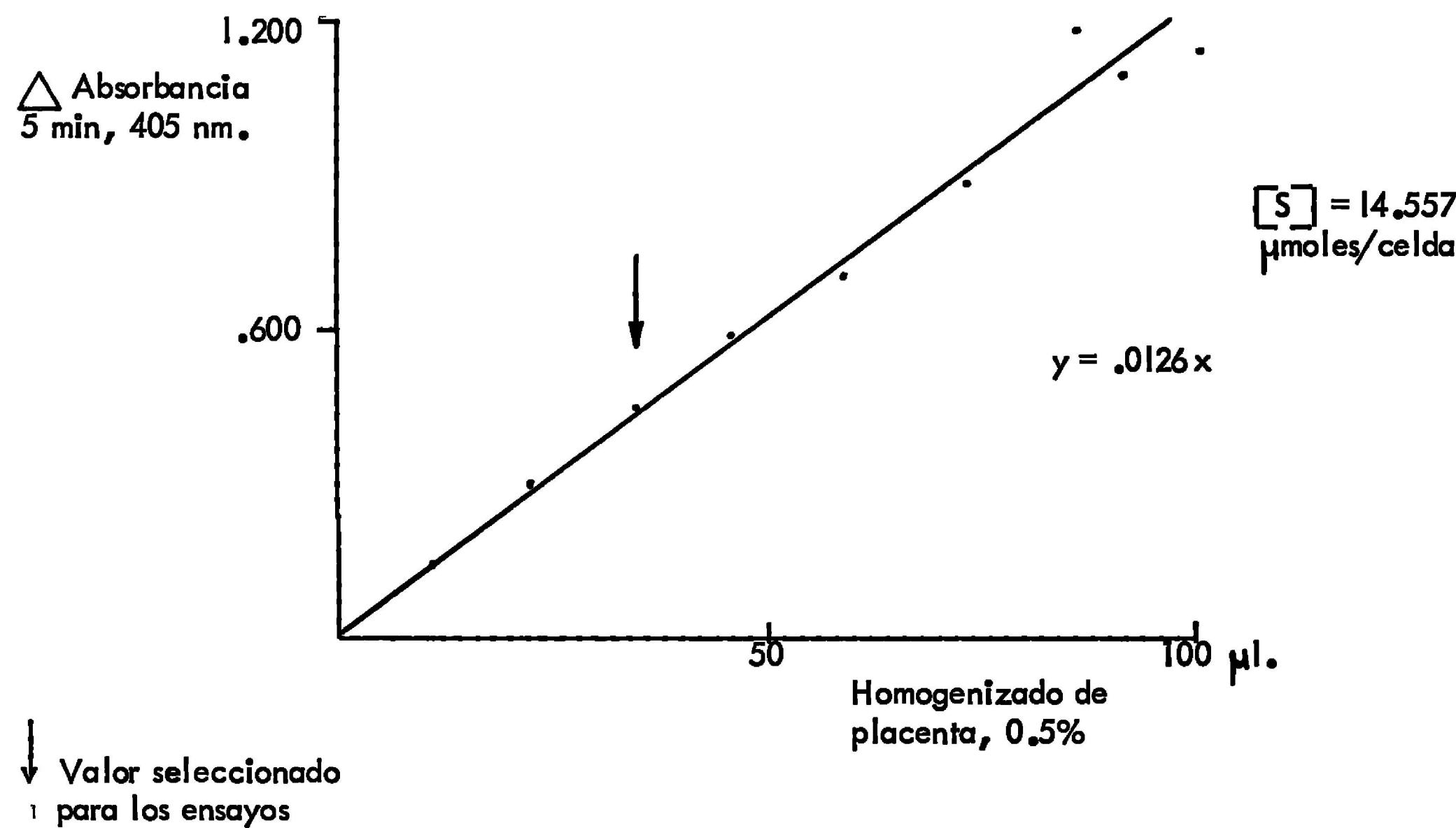
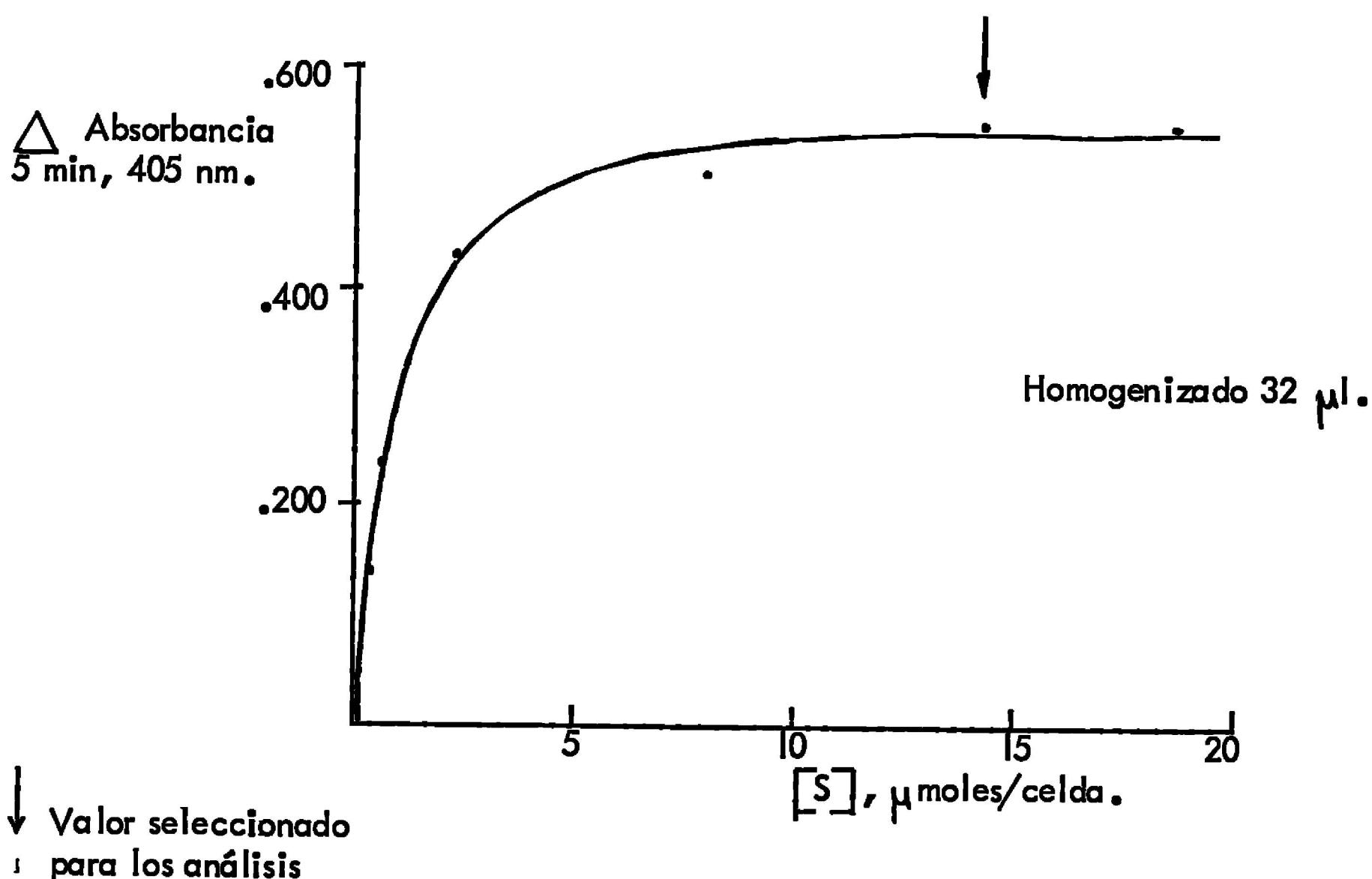


Figura 8. ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN HOMOGENIZADO DE PLACENTA AL 0.5%

27



Las mezclas de reacción utilizadas fueron las siguientes:

	Plasma ( $\mu$ l)	Homogenizado de placenta 0.5% ( $\mu$ l)
Buffer (Dietanolamina + $MgCl_2$ )	906.28	906.28
Substrato	73.66	69.32
(Incubados 5 min, 30°C).		
Luego		
Muestra	24.80	31.97
Volumen total	1004.74	1007.57

La actividad enzimática se calculó a partir del cambio en absorbancia a 405 nm. en 5 minutos, utilizando el coeficiente de absorción molar del p-nitrofenol previamente determinado para las condiciones del ensayo ( $1.81 \times 10^{-4}$ ). La actividad se expresó como milímoles de p-nitrofenol generado/hora/ml. de muestra y como milímoles/hora/mg. de proteína.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Pesos y Tallas:

#### a) Valores iniciales de peso y talla:

Los valores de peso y talla fueron registrados a partir de la primera visita de la paciente a la consulta prenatal. La edad de embarazo en ese momento se determinó por altura uterina y tiempo de amenorrea. En base a estos datos se calculó el peso al inicio del embarazo, restando el aumento mínimo considerado como satisfactorio para esa edad de embarazo (85). La relación peso/talla se expresó como % de la normal para la talla de la paciente. Los resultados obtenidos se presentan en la tabla 2.

TABLA 2

VALORES INICIALES DE PESO  
Y TALLA EN 15 MUJERES (Jacaltenango)

Caso	Peso		Talla cms.	P/T % del nl.
	Lbs.	Kg.		
01	96	43.6	148	86
02	87	39.5	148	78
03	113	51.4	153	93
04	97.5	44.3	147	88
06	94	42.7	143	87
07	88.5	40.4	140	82
08	103	46.8	144	93
09	121	55.0	150	106
10	103	46.8	148.5	87
11	110	50.0	158	87
12.	95	43.2	146	85
14	118	53.6	149	105
15	116.5	53.0	142	112
16	114	51.8	156	104
17	98.5	44.8	146	80
Promedio	103.7	47.1	148	91.5
+ 1 D.S.	11	5.0	5	10.4
-				

b) Ganancia de peso durante el embarazo:

En cada visita de la paciente a la clínica se registró el peso. En promedio se tienen  $9.9 \pm 4$  pesos por paciente. Los datos están expresados como ganancia de peso sobre el peso previo al embarazo calculado para cada paciente, y se resumen en la Tabla 3. La figura 9 se ha construido asumiendo como aumento mínimo durante el primer trimestre del embarazo 1 libra, y restándola de los valores registrados en la Tabla 3.

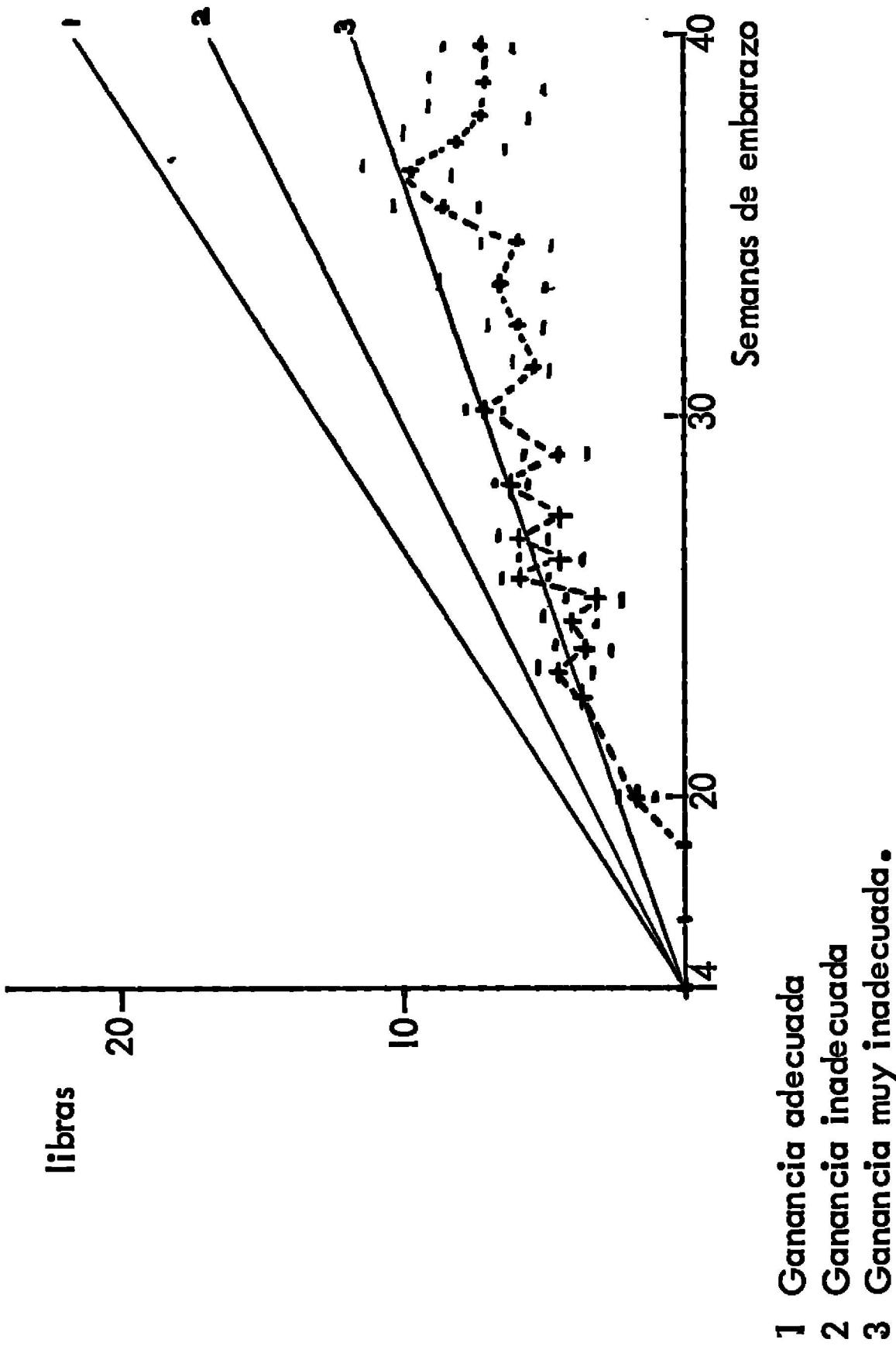
TABLA 3

GANANCIA DE PESO DURANTE EL EMBARAZO

Semana de embarazo	Número casos	Promedio (E.E.)*
14	1	1.0
15	1	1.0
18	1	1.0
19	2	0.8
20	3	2.7 (0.80)
21	1	4.0
22	4	4.6 (0.95)
23	4	4.2 (0.90)
24	4	4.4 (0.75)
25	3	4.0 (1.50)
26	7	7.0 (0.34)
27	9	6.0 (0.37)
28	5	7.3 (0.67)
29	9	6.1 (0.57)
30	10	7.7 (0.82)
31	6	6.4 (0.57)
32	9	6.8 (0.87)
33	6	7.6 (1.55)
34	10	7.2 (1.04)
35	11	9.1 (1.36)
36	8	10.2 (1.31)
37	7	8.8 (1.70)
38	8	9.1 (1.59)
39	6	9.1 (1.88)
40	7	9.2 (1.29)

\* Error Estandar.

Figura 9. GANANCIA DE PESO DURANTE EL SEGUNDO Y TERCER TRIMESTRE DEL EMBARAZO. ( $\bar{x} \pm E.E.$ )



c) Peso y talla del niño al nacer:

Con excepción de un caso (número 14) cuyo parto se efectuó a las 37 semanas de gestación, todos fueron partos a término. La distribución para peso y talla por sexo aparece en la Tabla 4.

TABLA 4

PESO Y TALLA AL NACIMIENTO

Caso Número	Sexo	Peso (g.)	Talla (cm.)
01	M	2784	47
02	F	2955	48
03	M	2756	47
04	M	3182	
06	M	2926	48
07	M	2699	47
08	M	3239	48
09	M	2415	44
10	M	2685	48
11	M	3111	50
14	F	2074	45
16	F	2855	48
17	F	2614	46
Promedio		2792	47.2
$\pm 1 D.S.$		318	1.6

Cuando se clasifican los recién nacidos por sexo se obtiene un peso para los varones de  $2866 \pm 270$  g. y para las mujeres  $2624 \pm 390$  g. ( $p$  menor 0.05). Esta diferencia desaparece al excluir de este último grupo a la niña nacida por parto prematuro.

d) Peso de la placenta:

El peso registrado corresponde al determinado después de separar las membranas y el cordón, es decir, incluye las masas trofoblástica y fibroblástica. Los valores se presentan en la Tabla 5.

TABLA 5

## PESO DE LA PLACENTA

Caso número	Peso (g.)
01	270
02	424
03	230
04	338
06	320
07	270
08	272
09	201
10	274
11	302
14	190
16	319
17	291
Promedio $\pm$ D.S.	285 $\pm$ 61

## 4.2. Análisis Bioquímico de las muestras:

## a) Hemoglobina y Hematocrito:

Los resultados de hemoglobina y hematocrito para cada paciente y su variación durante el embarazo se muestran en las Tablas 6 y 7 (Figura 10). No se encontró cambio significativo en los valores de hemoglobina y hematocrito durante

el período de seguimiento. El promedio de hemoglobina para todo el grupo durante el embarazo fue  $12.8 \pm 0.6$  g/100 ml., y el de hematocrito  $37.6 \pm 1.3\%$ .

TABLA 6

## VALORES DE HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO DURANTE EL EMBARAZO EN 17 MUJERES (Jacaltenango)

Caso	n*	Hemoglobina $\bar{X}$ (D. S.)	Hematocrito $\bar{X}$ (D. S.)
01	3	12.7 (0.3)	38.3 (0.7)
02	6	12.7 (0.4)	37.8 (1.8)
03	7	12.9 (0.4)	37.8 (0.3)
04	2	13.8 (12.7-14.9)*	38.5 (37-40)*
05	1	12.4	37.0
06	3	14.1 (0.2)	39.5 (38-41)*
07	4	12.8 (0.2)	37.2 (2.5)
08	5	12.5 (0.5)	38.5 (1.2)
09	2	12.8 (12.7-12.9)*	38.5 (38-39)*
10	6	13.2 (1.0)	37.1 (2.4)
11	4	12.2 (0.6)	35.7 (1.7)
12	6	12.8 (1.1)	36.9 (1.7)
13	1	12.6	38.0
14	4	13.1 (0.5)	39.5 (1.9)
15	3	12.3 (0.5)	37.5 (1.0)
16	5	12.9 (0.6)	37.4 (1.1)
17	3	11.3 (0.1)	34.2 (0.3)

Promedio  $12.8 \pm 0.6$   $37.6 \pm 1.3$

\* n: número de determinaciones

\* rango

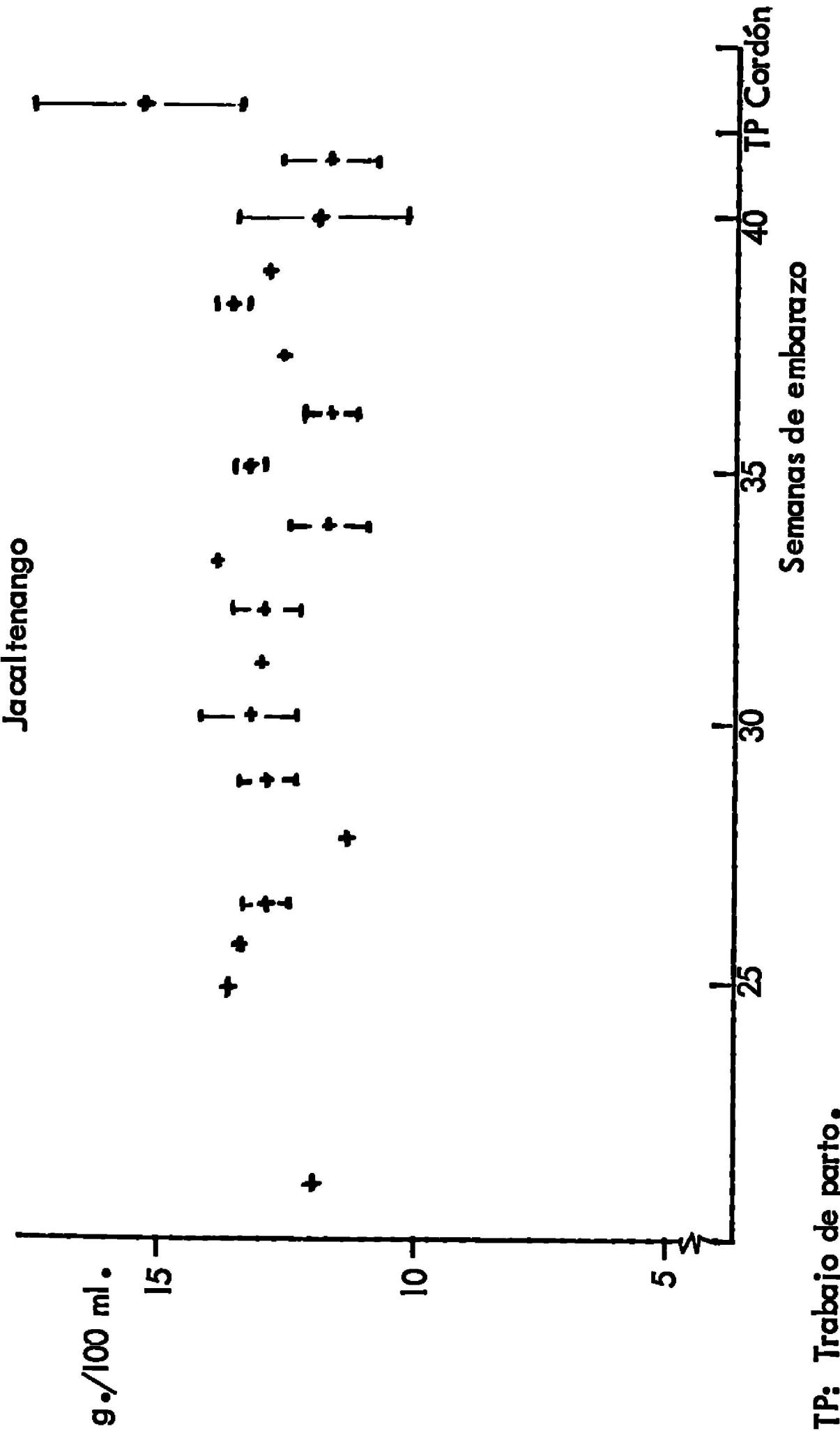
TABLA 7

VALORES DE HEMOGLOBINA Y HEMATOCRITO  
DURANTE EL EMBARAZO. 17 CASOS  
Jacaltenango

Semana de Embarazo	n*	Hemoglobina $\bar{X}$ (D. S.)	Hematocrito $\bar{X}$ (D. S.)
22	1	12.1	36
25	1	13.5	37
26	2	13.4 (12.9-13.9)**	38 (36-39)**
27	4	12.6 (0.3)	37 (0.8)
28	1	11.6	34
29	7	12.5 (0.4)	37.6 (0.8)
30	3	12.7 (0.9)	36 (2.6)
31	2	12.7 (12.3-13.1)**	37 (36-38)**
32	5	12.7 (0.6)	38 (2.2)
33	1	13.7	38
34	4	12.0 (0.5)	35.6 (1.4)
35	5	13.1 (0.3)	37.6 (1.7)
36	4	11.9 (0.5)	35.5 (0.5)
37	3	12.6 (12.3-12.9)**	37.7 (1.6)
38	5	13.6 (0.2)	38.2 (1.3)
39	3	12.7 (12.5-12.8)**	37 (1.7)
40	4	13.1 (1.5)	39 (1.4)
Trabajo de parto	13	13.0 (0.8)	38.9 (2.0)
Cordón Umbilical	10	15.6 (1.8)	47.8 (6.8)

\* Número de determinaciones

\*\* Rango

Figura 10. VALORES DE HEMOGLOBINA DURANTE EL EMBARAZO. 17 CASOS  
Jacaltenango

b) **Proteínas:**

Los niveles de proteínas séricas durante el embarazo se presentan en la Tabla 8 y en la Figura II. En la Tabla 9 se presentan los promedios de proteínas séricas durante el embarazo, así como las concentraciones de las mismas en sangre del cordón y en la placenta.

**TABLA 8**  
**PROTEINAS SERICAS DURANTE EL EMBARAZO**

Semana de embarazo	n*	Proteínas séricas g./100 ml. (x (E.E.))**
22	1	6.7
25	1	8.0 (5.8-6.0)***
26	2	5.9 (5.8-6.0)***
27	3	7.1 (0.2)
28	1	5.9
29	7	6.6 (0.2)
30	3	6.8 (0.5)
31	2	6.8 (6.5-7.1)***
32	5	6.9 (0.3)
33	1	7.5
34	4	6.5 (0.2)
35	5	7.0 (0.3)
36	4	7.0 (0.3)
37	3	6.9 (0.1)
38	5	7.3 (0.1)
39	3	6.3 (0.5)
40	4	7.1 (0.3)
Trabajo de parto	13	6.8 (0.1)
Cordón Umbilical	10	5.2 (0.2)

\* n: Número de determinaciones

\*\* Promedio (Error Estandar)

\*\*\* Rango

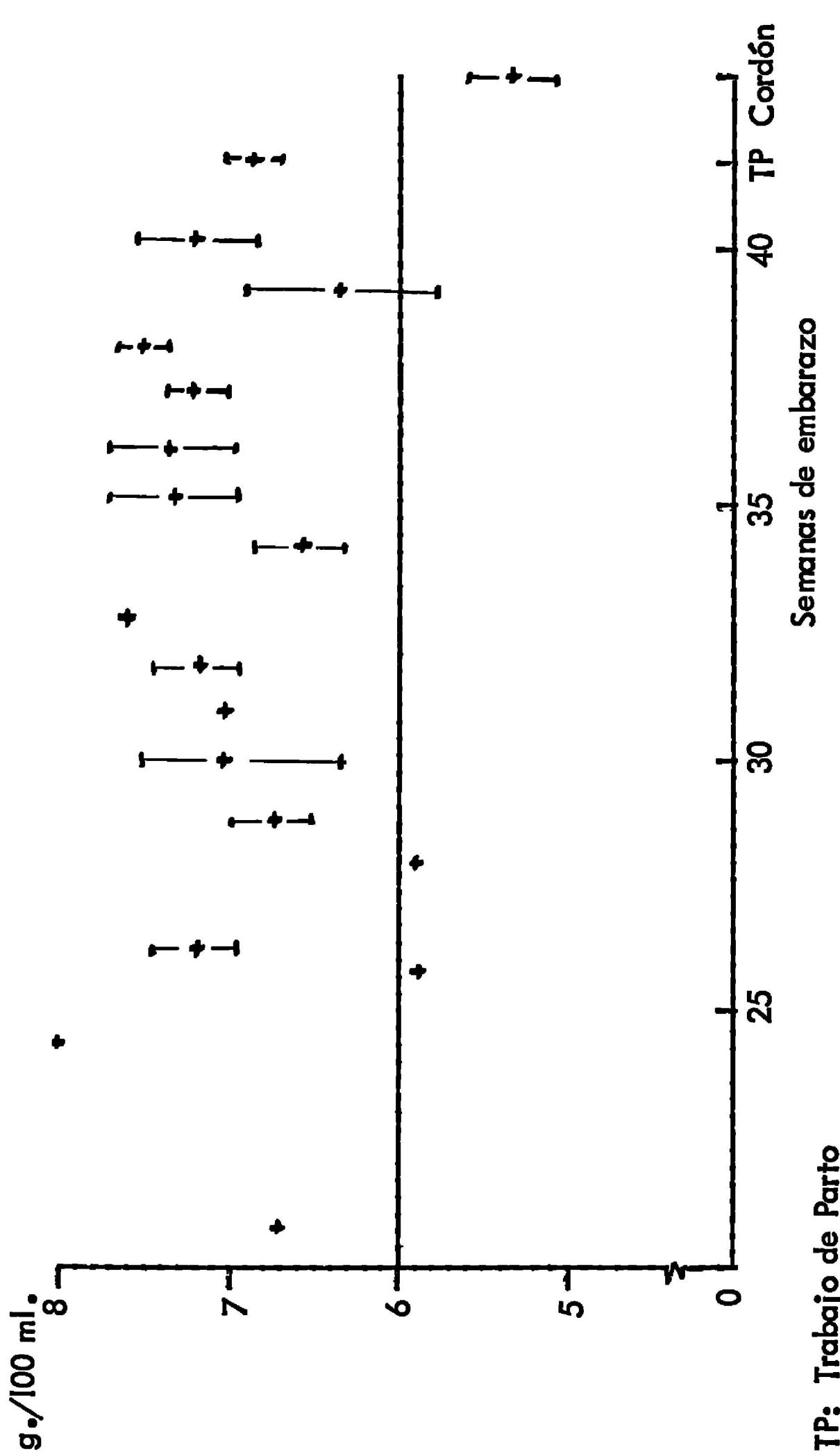


TABLA 9

PROTEINAS EN PLASMA  
MATERNO, PLASMA DEL CORDON UMBILICAL Y  
EN PLACENTA

Caso No.	Plasma (g/100 ml.)		Placenta	
	madre	cordón	mg/ml*	mg/g. tejido*
01	6.0	4.0	3.59	71.8
02	6.4	5.7	3.02	60.4
03	7.4	5.0	2.28	45.6
04	6.8	4.4	2.25	45.0
05	6.3			
06	7.5	6.5	3.74	74.8
07	6.5	5.4	4.40	88.0
08	6.2		2.55	51.0
09	6.9	5.3	3.04	60.8
10	7.4		3.61	72.2
11	6.6	5.1	2.74	54.8
12	6.9			
13	6.6			
14	7.0		3.32	66.4
15	7.3			
16	6.9	5.6	3.68	73.6
17	6.8	5.0	2.66	53.2
Promedio (E.E.)	6.8	5.2	3.15	62.9
	(0.1)	(0.2)	(0.18)	( 3.4)

\* mg./ml. de homogenizado de placenta al 5%. Los resultados expresan equivalentes de albúmina de la proteína contenida en la muestra.

c) Hierro y folatos:

Los resultados sobre hierro y folatos se presentan en las Tablas 10, II, y I2 y en las Figuras I2 y I3. Debe señalarse que las muestras para ácido fólico se empezaron a colectar cuando ya se había iniciado el seguimiento, razón por la cual su número es menor y faltan en algunos casos. Durante el embarazo no se encontró variación significativa en los niveles de hierro y folatos. Las muestras de sangre del cordón resultaron ligeramente hemolizadas, por lo que los valores de hierro son más altos que lo esperado.

TABLA 10

HIERRO SERICO, CAPACIDAD TOTAL DE LIGAR HIERRO,  
 % DE SATURACION DE ESTA Y FOLATOS EN SANGRE  
 DURANTE EL EMBARAZO

Sem.	n**	X (E.E.)*			
		Hierro Sérico ( $\mu$ g./100 ml.)	CTLH ( $\mu$ g./100 ml.)	% Saturación	Folatos (ng./ml)
22	1	42.22	575.81	7.33	
25	1	63.46	346.15	18.33	
26	2	56.08(55.13-57.03)***	473.38(444.86-501.90) ***	11.91(10.48-11.83) ***	
27	3	59.53(11.75)	378.70(54.39)	27.77(2.90)	
28	1	106.46	427.75	24.89	
29	7	55.95(6.17)	482.80(27.88)	12.18(1.97)	25
30	3	75.68(16.88)	465.59(10.00)	16.35(3.72)	21
31	2	50.90(34.61-67.18)***	458.24(431.86-484.61) ***	11.34(7.14 - 15.55)***	26
32	5	56.20(8.37)	495.03(67.05)	11.64(2.05)	28(3.3)
33	1	88.30	547.62	16.14	22
34	4	51.65(15.82)	587.04(59.60)	11.63(2.85)	29(22-38)
35	5	69.97(5.65)	475.18(29.95)	14.86(1.30)	21(1.6)
36	4	50.28(9.62)	478.66(46.98)	10.74(2.45)	13(4.39)
37	3	71.91(19.22)	465.19(56.76)	15.25(6.30)	25
38	5	79.06(12.48)	472.95(31.22)	16.72(2.28)	27(5.78)
39	3	80.35(15.30)	480.65(33.10)	16.47(2.25)	17(12.2)
40	4	81.40(13.78)	557.14(48.81)	14.76(2.56)	30(1.33)
****					
Tp	11	73.18(7.20)	485.25(26.97)	15.27(1.30)	18.4(3.2)
cordón	8	*****	*****	69.81(3.76)	36(5.32)

\* Promedio (error estandard)

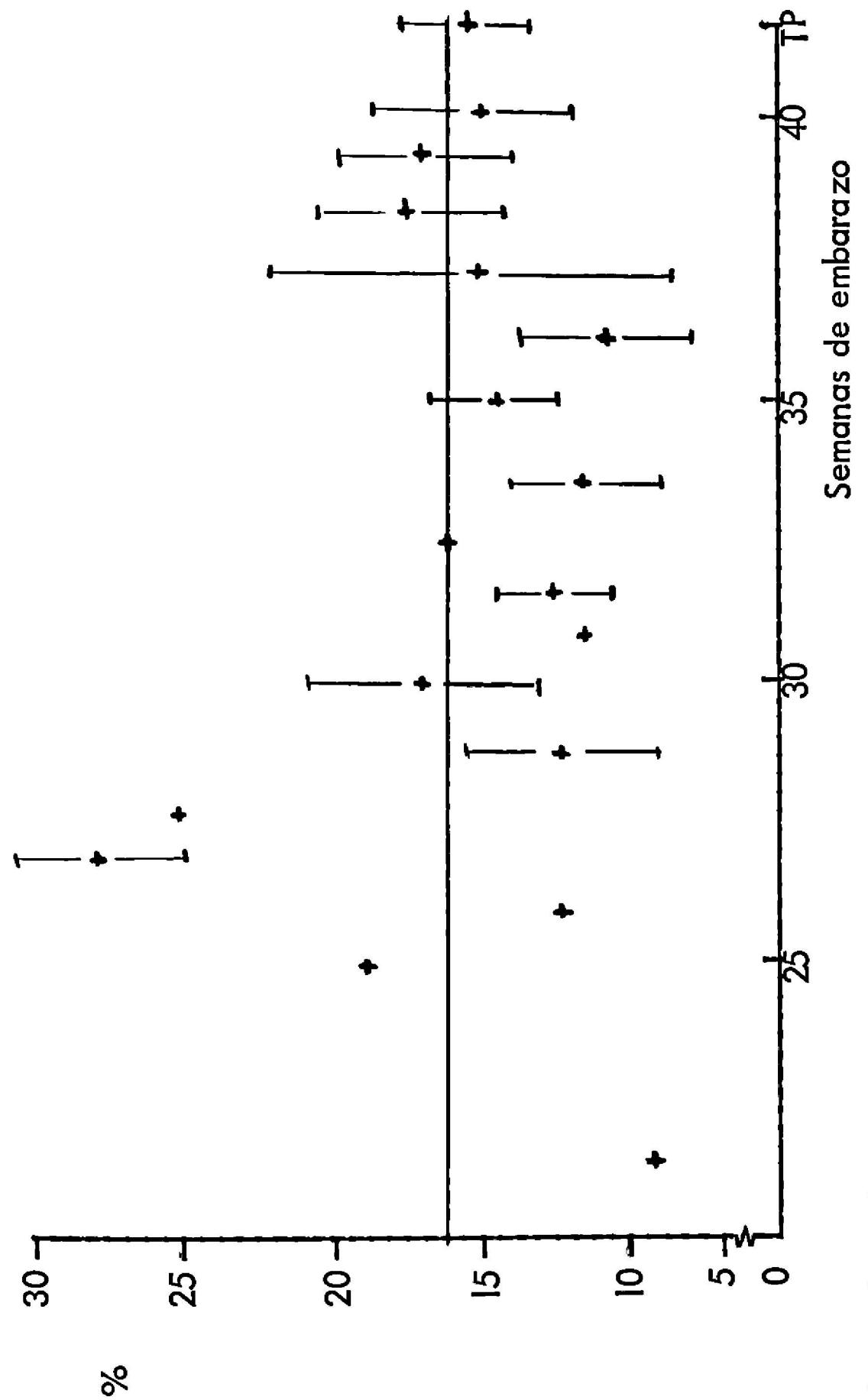
\*\* n: número de determinaciones

\*\*\* rango

\*\*\*\* Tp: Trabajo de parto

\*\*\*\*\* Muestras hemolizadas parcialmente.

Figura 12. PORCENTAJE DE SATURACION DE LA CTLH EN SANGRE DURANTE EL EMBARAZO. ( $\bar{x} \pm E.E.$ )



Tp: trabajo de parto.

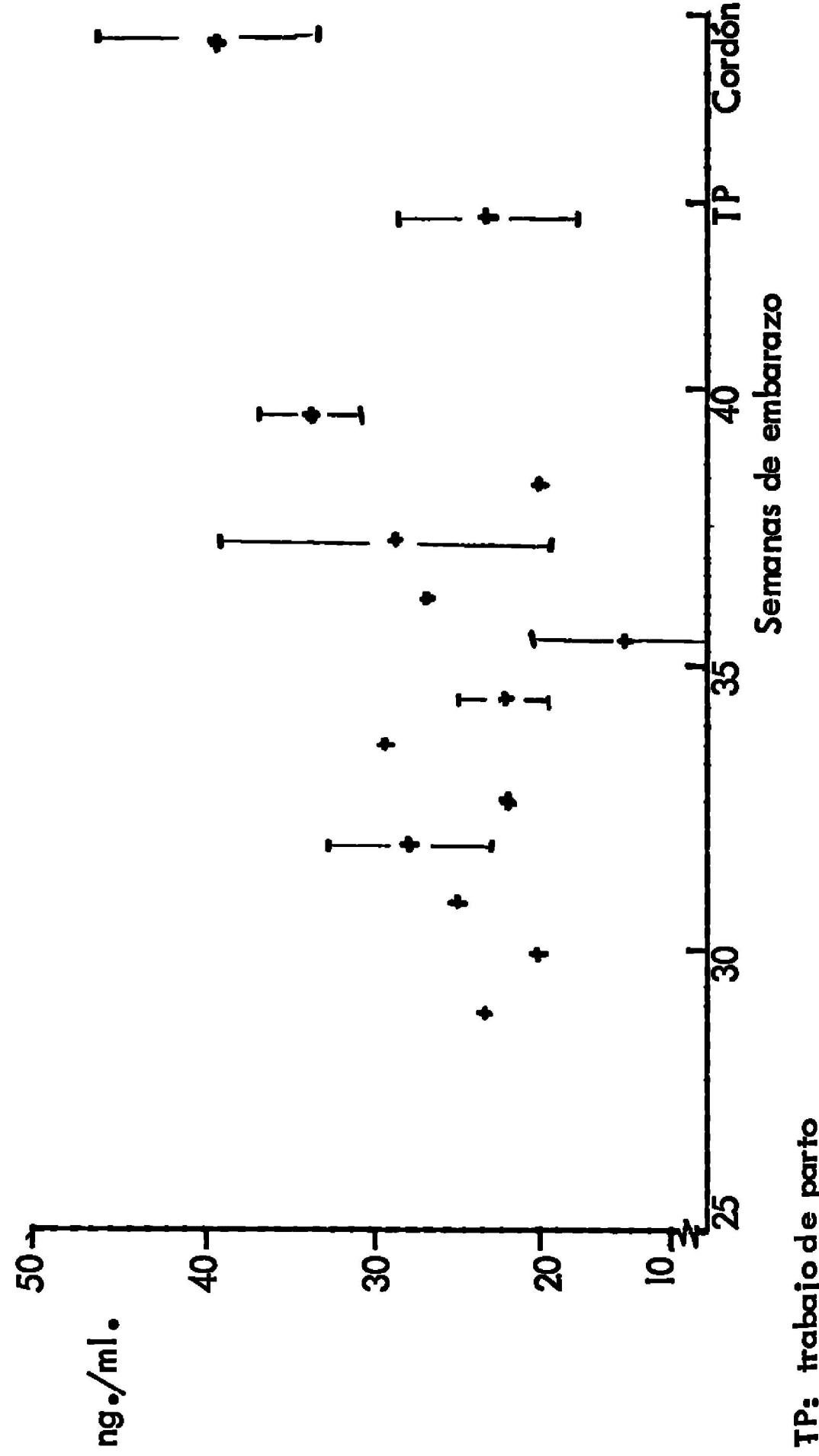
Figura 13. NIVELES DE ACIDO FOLICO DURANTE EL EMBARAZO ( $\bar{x} \pm E.E.$ )

TABLA II

## HIERRO SERICO, CTLH, % DE SATURACION Y FOLATOS EN SANGRE DURANTE EL EMBARAZO

Caso	Hierro sérico (mg./100 ml.)	CTLH (mg./100 ml)	% Satura ción	Folatos (ng/ml)
01	72.46	553.14	13.23	
02	57.51	403.54	14.24	33
03	70.73	391.41	18.31	31
04	50.38	384.98	13.09	
05	82.53	380.04	21.71	
06	76.23	621.48	12.21	
07	98.73	474.63	20.70	22
08	54.04	539.36	10.11	24
09	107.92	432.94	24.78	
10	75.19	507.40	14.92	14
11	60.84	422.48	14.38	12
12	85.09	481.09	17.68	21
13	28.79	466.41	6.17	
14	57.47	473.16	12.13	22
15	40.97	549.29	7.47	24
16	55.00	516.98	10.23	25
17	44.72	580.17	7.75	9
Promedio	65.80	481.09	14.06	22
E.E.	3.94	17.48	1.24	2.2

TABLA 12

% DE SATURACION DE CTLH Y FOLATOS EN PLASMA DURANTE TRABAJO DE PARTO Y EN CORDON UMBILICAL

Caso	% Saturación		Folatos	
	T. de P.*	Cordón	T. de P.*	Cordón
01	7.82	55.88		
02	13.16	65.89	32	23
03	17.04	61.90	28	24
04	13.33	76.66		
06	13.51	71.43		
07	17.30		16	25
08			26	64
09	22.06			
10	17.24		3	
11	13.24	60.16	12	30
14			17	50
16	21.36	85.71	24	46
17	10.88	80.81	8	30
Promedio	15.23	69.81	18.4	36
E.E. **	1.30	3.80	3.3	5.3

\* T. de P.: Trabajo de parto

\*\* Error Estandar.

d) Oxytocinasa:

El cambio en la actividad de oxytocinasa en el plasma durante el embarazo en los casos estudiados se resume en la Tabla 13 (Figuras 14 y 15).

TABLA 13

ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA (CYSTINA AMINOPEPTIDASA) DURANTE EL EMBARAZO EN 17 MUJERES (Jacaltenango)

Semana de embarazo	n*	Actividad $\bar{x}$ (E.E.)	
		nmoles/min/ml.	nmoles/min/mg prot.
22	1	13.55	0.20
25	1	16.94	0.22
26	2	10.56 (6.6-14.51)**	0.18 (0.11-0.25)**
27	3	16.79 (4.57)	0.23 (0.06)
28	1	12.51	0.21
29	7	20.31 (3.08)	0.30 (0.04)
30	3	18.24 (11.14)	0.27 (0.16)
31	2	20.59 (12.42-28.75)	0.30 (0.19-0.40)
32	5	24.53 (7.38)	0.36 (0.11)
33	1	6.78	0.09
34	4	24.32 (5.82)	0.39 (0.11)
35	5	28.39 (10.77)	0.40 (0.15)
36	4	29.86 (19.42)	0.44 (0.17)
37	3	48.62 (11.0)	0.70 (0.14)
38	5	50.97 (8.89)	0.69 (0.11)
39	3	28.06 (8.40)	0.47 (0.16)
40	4	45.04 (12.71)	0.62 (0.18)
Trabajo de parto			
Trabajo de parto	13	45.50 (6.07)	0.62 (0.09)
Cordón	10	8.97 (2.59)	0.18 (0.05)
Placenta	13	9.15 (0.86)***	3.12 (0.42)

\* n: número de análisis

\*\* Rango

\*\*\* Homogenizado de placenta al 5%.

Figura 14. ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA EN PLASMA DURANTE EL EMBARAZO.

48

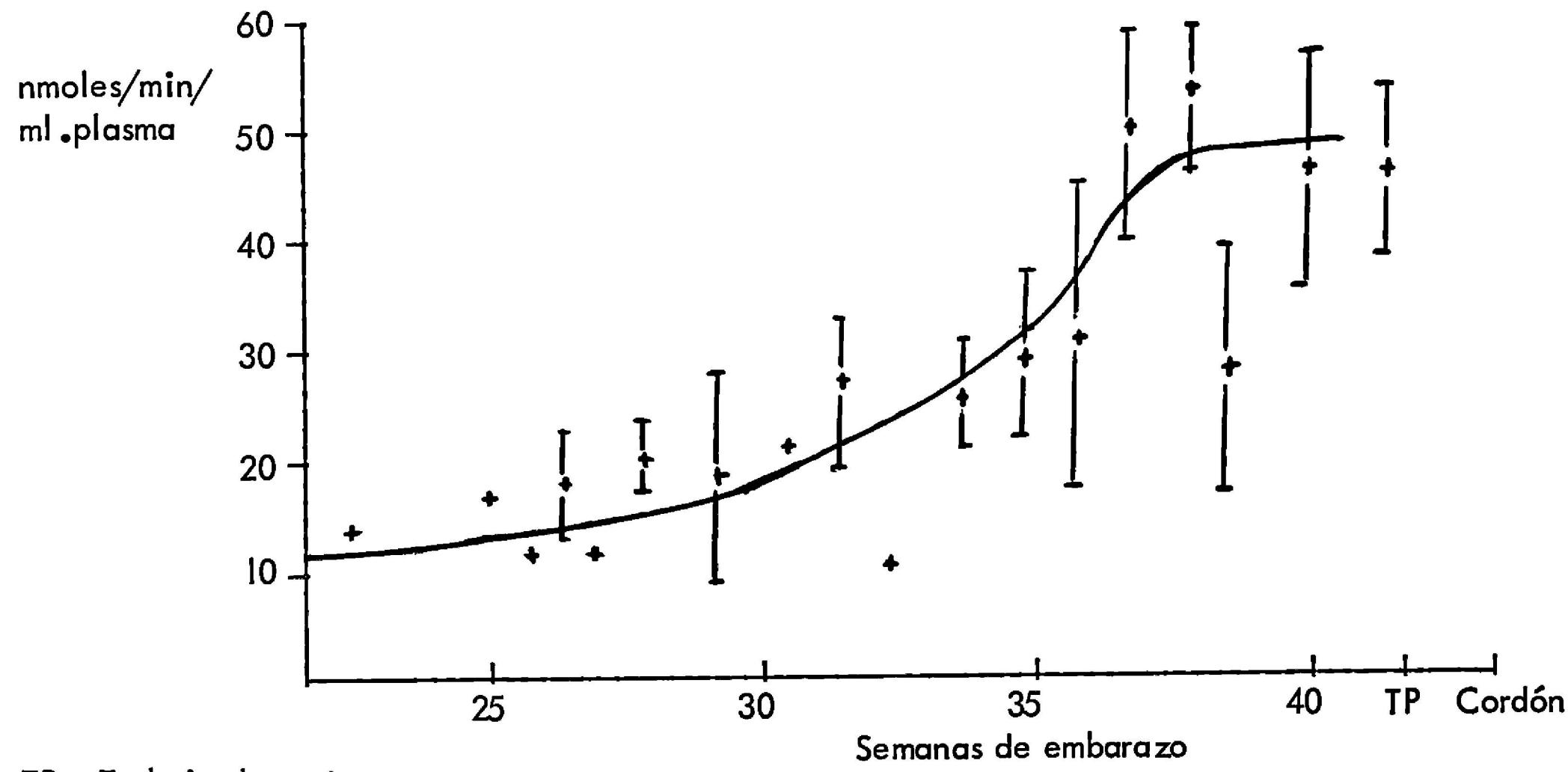
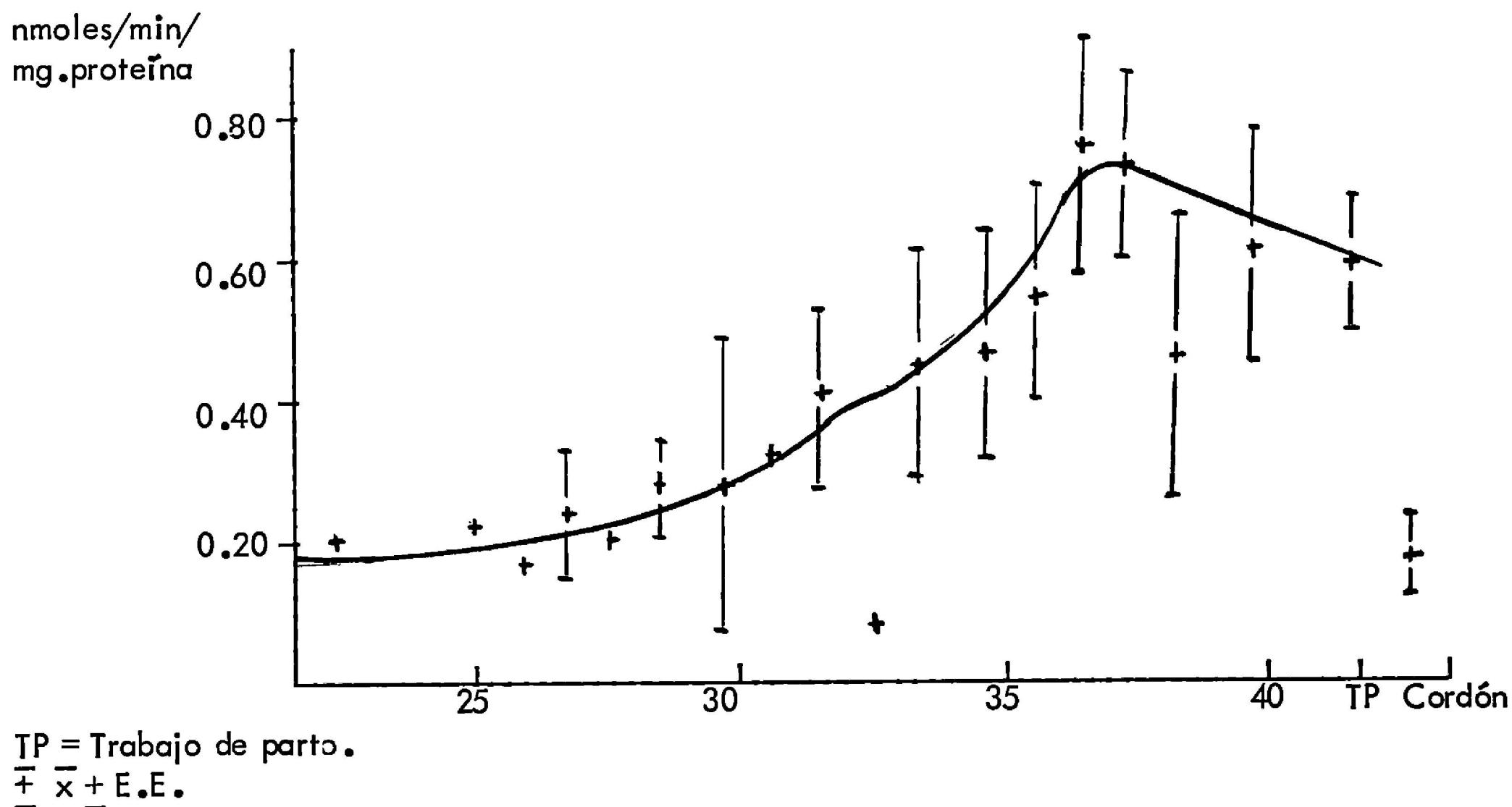


Figura 15. ACTIVIDAD ESPECIFICA DE OXYTOCINASA EN PLASMA DURANTE EL EMBARAZO.



49

Estos resultados fueron agrupados para los meses de embarazo correspondientes con el fin de hacer más evidentes los cambios existentes. Estos resultados se presentan en la Tabla 14 (Figura 16).

TABLA 14

CAMBIOS EN ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA EN PLASMA DURANTE EL EMBARAZO

Edad de embarazo (semanas)	Actividad	
	nmoles/min/ml	nmoles/min/mg. prot.
22-27	14.46	0.21
28-31	17.91	0.27
32-36	22.88	0.34
37-40	43.17	0.62
Trabajo de parto	45.50	0.62
Cordón Umbilical	8.97	0.18

La actividad de oxytocinasa en homogenizado de placenta se presenta en la Tabla 15.

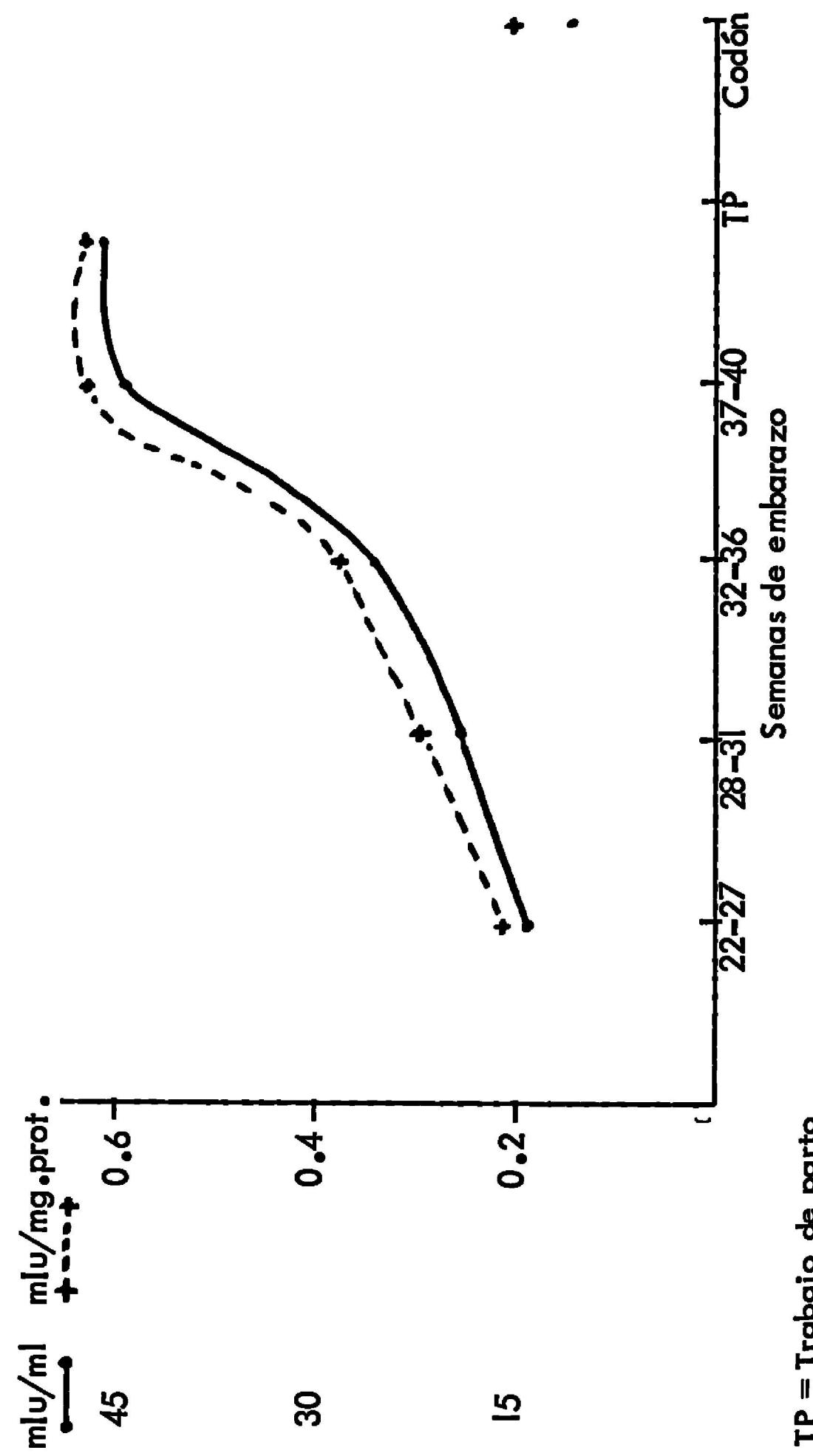
TABLA 15

ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA EN HOMOGENIZADO DE PLACENTA AL 5% SEGUN CASOS

Caso	Actividad nmoles/min/ ml.	Actividad nmoles/min/ mg. prot.	Actividad nmoles/min/ g. tejido
01	8.34	2.32	166.8
02	10.94	3.62	218.8
03	15.98	7.01	316.0
04	9.21	4.09	184.2
06	11.29	3.02	225.8
07	5.56	1.26	111.2
08	9.38	3.68	187.6
09	8.69	2.86	173.8
10	4.26	1.18	85.2
11	6.17	2.25	123.4
14	11.90	3.61	239.8
16	7.12	1.94	142.4
17	10.08	3.79	201.6
Promedio	9.15	3.12	182.8
E. E.*	0.82	0.40	16.31

\* Error estandar

Figura 16. CAMBIO EN LA ACTIVIDAD DE OXYTOCINASA EN PLASMA DURANTE EL EMBARAZO.



## e) Fosfatasa Alcalina

En la Tabla 16 se presentan los resultados de fosfatasa alcalina total y fosfatasa alcalina termoestable. Se ha calculado también allí el porcentaje de actividad de fosfatasa alcalina aportado por la fracción termoestable.

TABLA 16

## ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN PLASMA DURANTE EL EMBARAZO

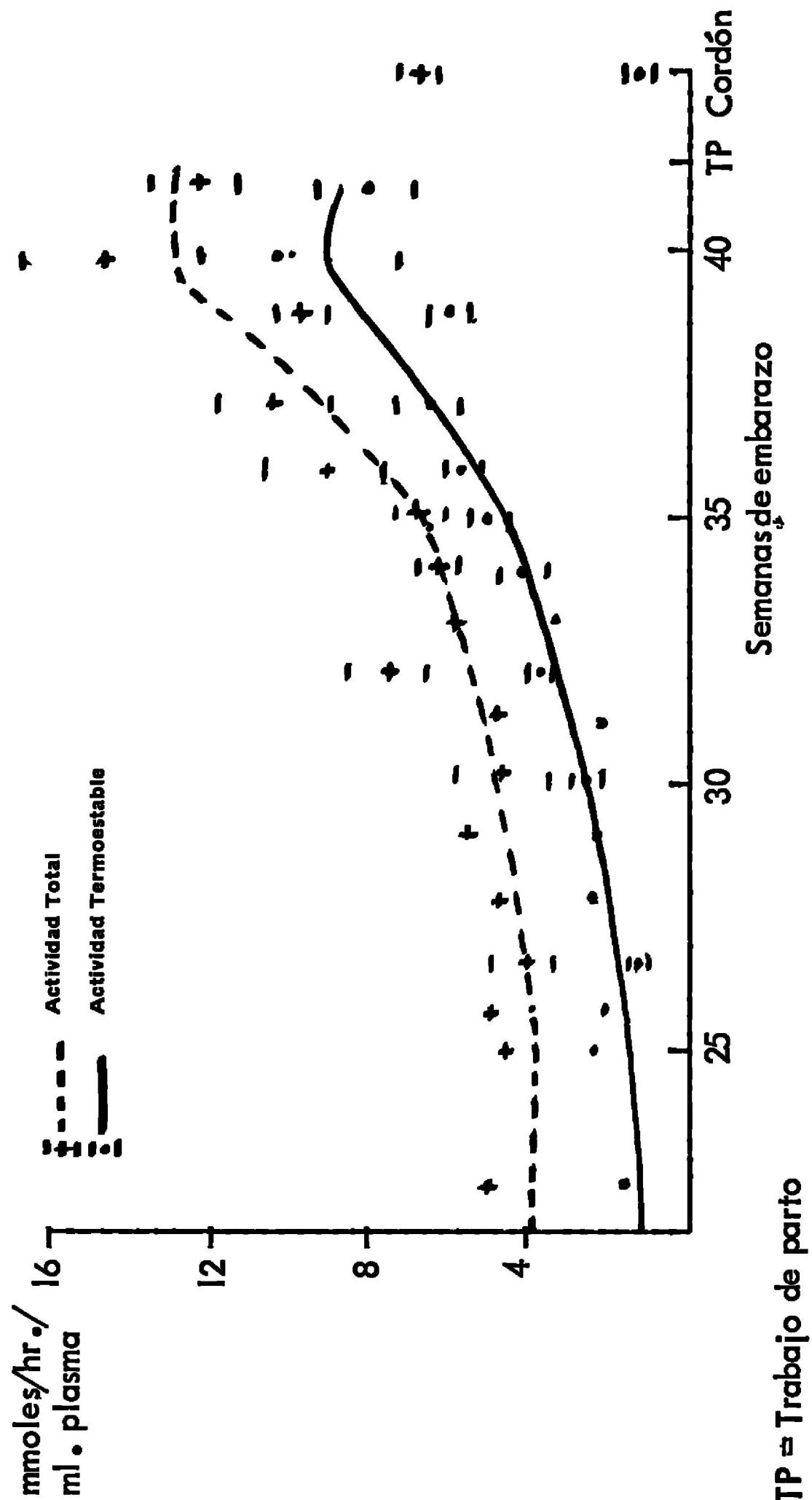
Edad de embarazo	Actividad $\bar{x}$ (E.E.) milimoles/hora/ml de plasma		
	Total	Termoestable**	o/o termoestable
22	5.10	1.48	29.0
25	4.84	2.02	41.7
26	5.04(3.63-6.45)***	1.82(0.67-2.96)***	32.2(1.5-45.9)***
27	3.76(0.68)	1.03(0.12)	29.1(5.03)
28	4.30	1.88	43.7
29	4.99(0.42)	1.73(0.42)	33.3(6.33)
30	4.07(0.99)	1.88(0.56)	45.6(6.24)
31	4.24(3.90-4.57)***	1.68(1.08-2.28)***	38.8(28-50)***
32	7.12(0.86)	2.77(0.39)	40.0(5.58)
33	5.10	2.42	47.4
34	5.81(0.45)	3.16(0.54)	53.4(6.8)
35	6.31(0.84)	4.08(0.64)	64.3(3.44)
36	8.43(1.52)	4.47(0.81)	53.0(0.90)
37	8.01(1.95)	3.32(0.63)	42.7(3.70)
38	9.70(1.42)	5.51(0.62)	59.9(7.32)
39	8.73(0.48)	4.57(0.56)	52.4(6.24)
40	13.74(2.84)	9.20(2.54)	64.8(7.30)
Trabajo de parto	11.98(0.97)	7.75(0.90)	63.6(2.56)
Cordón umbilical	6.38(0.29)	0.45(0.20)	7.0(0.82)
Placenta*	11.56(0.60)	11.62(0.69)	100.3(1.25)

\* Homogenizado de placenta al 0.5 o/o

\*\* Resistente al calentamiento a 65 grados centígrados por 5 min.

\*\*\* Rango

Figura 17. ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA DURANTE EL EMBARAZO.



Estos datos se representan en la Figura 17. La actividad específica de fosfatasa alcalina se presenta en la Tabla 17 (Figura 18).

**TABLA 17**  
**ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN PLASMA  
DURANTE EL EMBARAZO EN RELACION CON  
CONCENTRACION DE PROTEINA (17 casos, Jacaltenango)**

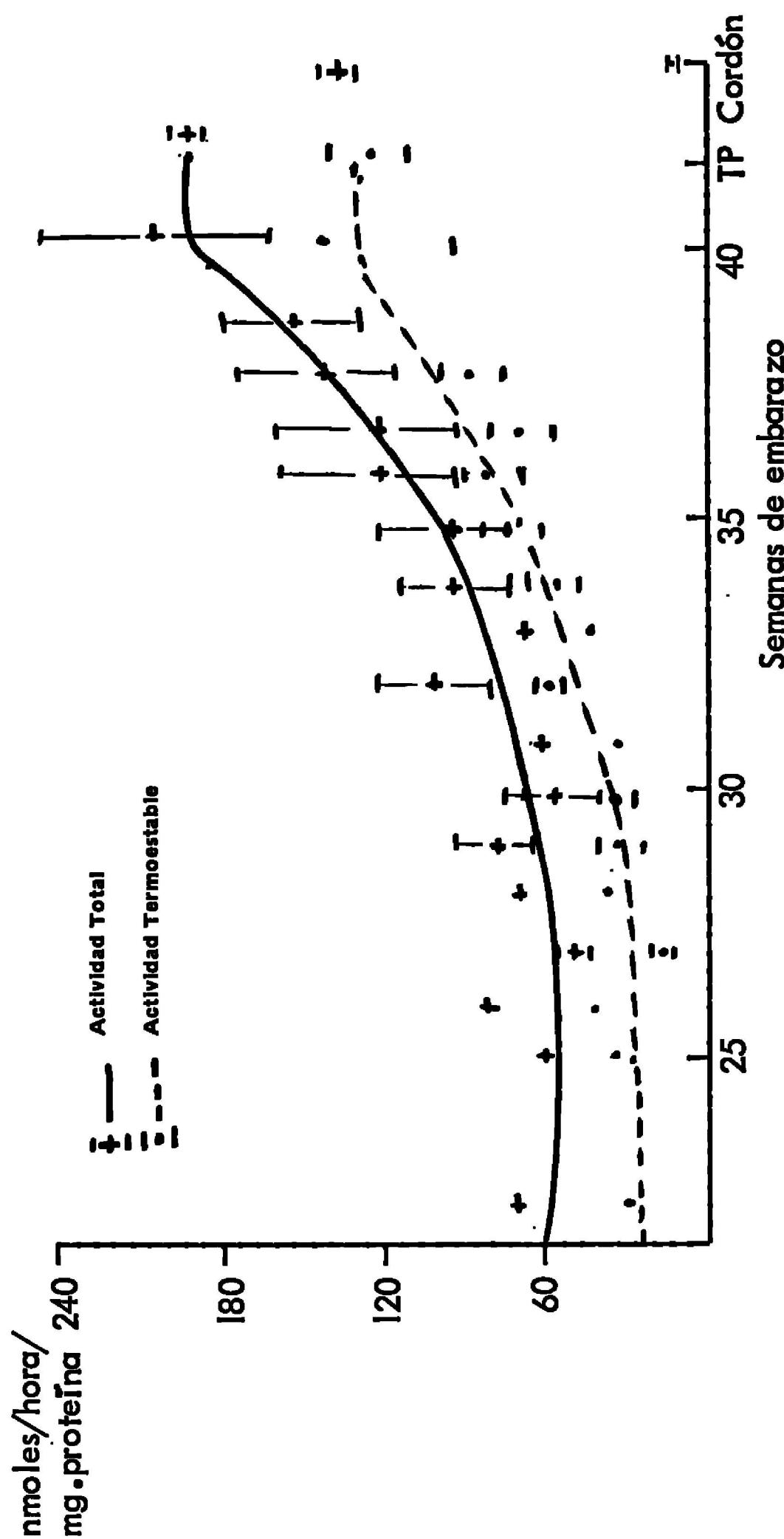
Edad de embarazo (semanas)	Actividad $\bar{x}$ (E.E.)		%TE**
	nanomoles/hora/mg. de proteína Total	Termoestable*	
22	76.1	22.1	29.0
25	60.5	25.2	41.7
26	85.9(60.5-111.2)***	31.1(11.2-51.0)***	36.2
27	52.6(6.6)	14.5(1.04)	27.6
28	72.9	31.9	43.8
29	76.0(7.39)	26.2(6.9)	34.5
30	60.3(4.9)	27.5(8.1)	45.6
31	62.6(54.9-70.3)***	25.2(15.2-35.1)***	42.3
32	104.6(4.3)	41.2(7.2)	39.4
33	66.2	31.4	47.4
34	90.5(9.1)	39.4(9.1)	43.5
35	90.4(12.7)	58.6(9.9)	64.8
36	121.4(21.4)	64.3(11.2)	53.0
37	114.6(25.4)	47.6(8.0)	41.5
38	131.6(17.9)	74.7(7.0)	56.8
39	142.2(17.2)	72.8(5.7)	51.2
40	195.2(44.2)	133.3(43.2)	68.3
Trabajo de parto	183.8(4.4)	114.5(12.9)	62.3
Cordón umbilical	124.6(7.0)	8.8(1.0)	7.1

\* Resistente al calor (65 grados centígrados) durante 10 minutos.

\*\* Porcentaje aportado por la fracción termoestable

\*\*\* Rango

Figura 18. ACTIVIDAD ESPECIFICA DE FOSFATASA ALCALINA DURANTE EL EMBARAZO EN PLASMA ( $\bar{x} \pm$  E.E.)



TP = Trabajo de parto.

La información precedente se resume en la Tabla 18, - en la que se presentan los valores promedio por cada mes de embarazo para fosfatasa alcalina termoestable y total. A partir de estos datos se ha calculado también la actividad de la fracción termolábil (no placentaria), lo que se muestra en la Figura 19.

TABLA 18

ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA TOTAL,  
TERMOESTABLE Y TERMOLABIL DURANTE EL EMBARAZO  
(nanomoles/hora/mg. de proteína)

Semanas embarazo	Actividad $\bar{x}$		
	Termolábil	Termoestable	% TE*
22-27	45.6	23.2	33.7
28-31	40.3	27.7	40.7
32-36	47.6	47.0	49.7
37-40	63.8	82.1	56.3
Trabajo de parto	69.3	114.5	62.3
Cordón Umbilical	115.8	8.8	7.1

\* TE: Porcentaje de la actividad total aportado por la fracción termoestable.

Los datos acerca de actividad en el cordón umbilical se detallan para los diferentes casos en la Tabla 19.

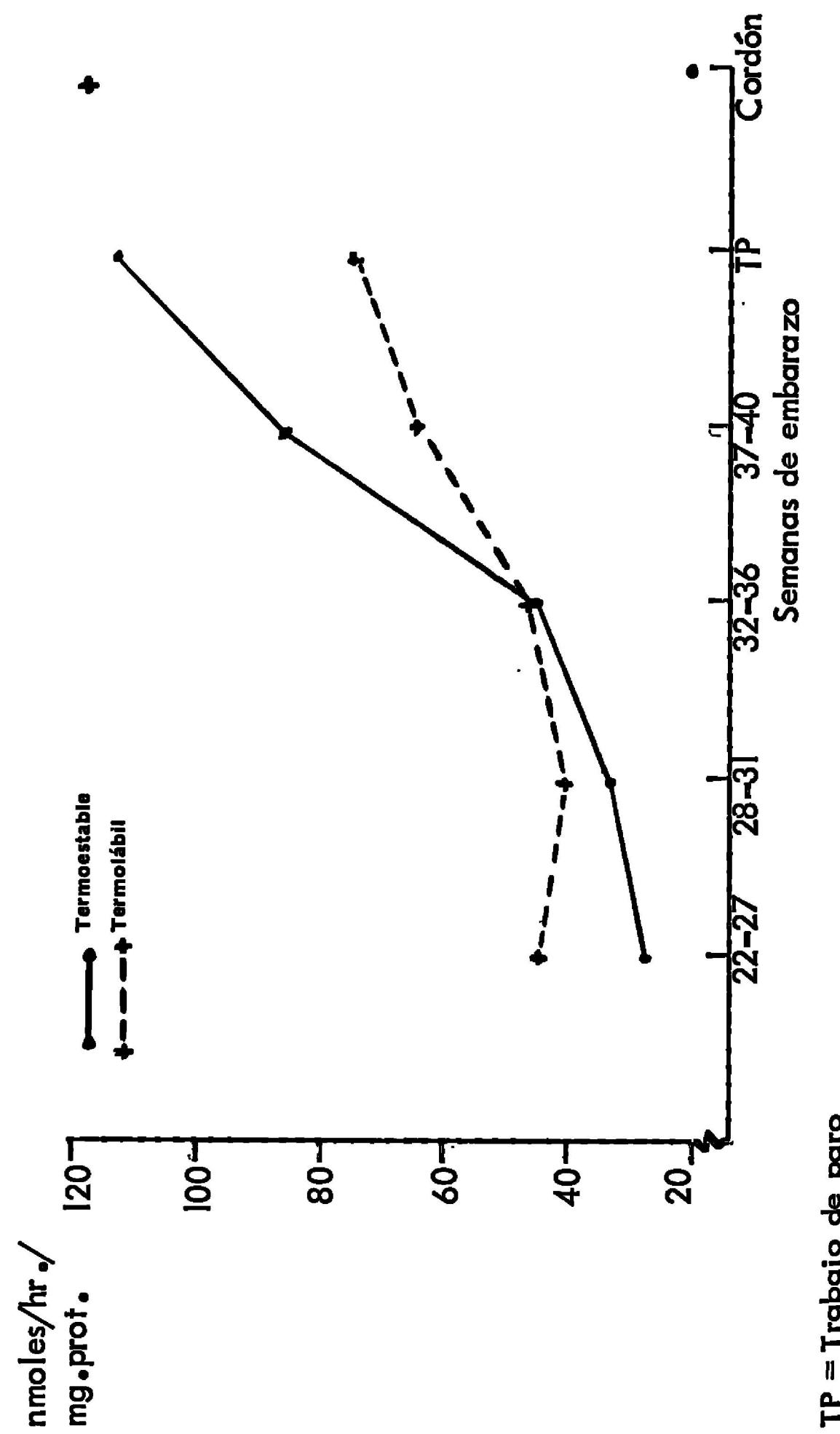
TABLA 19

## ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN SANGRE FETAL

Caso	Total	Actividad (nmoles/hora/mg. proteína)	
		Termoestable	% TE*
01	124.2	6.8	5.5
02	117.9	11.8	10.0
03	123.6	13.4	10.9
04	175.9	9.5	5.4
06	107.5	6.2	5.8
07	124.4	12.4	10.0
09	131.9	10.2	7.8
11	89.6	2.6	2.9
16	115.2	7.1	6.2
17	135.6	8.0	5.9
Promedio (E.E.)		124.6 (7.0)	7.0 (0.8)
		8.8 (1.0)	

\* Porcentaje de actividad total aportado por la fracción termoestable.

Figura 19. ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA TERMOESTABLE Y TERMOLÁBIL DURANTE EL EMBARAZO.



La actividad de fosfatasa alcalina se determinó en el homogenizado de placenta al 0.5%. Como ya se señaló en la Tabla 16, la totalidad de la actividad de fosfatasa alcalina en dichas muestras fue termoestable.

TABLA 20

ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN HOMOGENIZADO DE PLACENTA AL 0.5%

Caso	Actividad nmoles/hora/ mg. proteína	Actividad nmoles/hora/ g. tejido.
01	25.0	1798
02	39.5	2334
03	62.3	2842
04	44.1	1986
06	29.1	2174
07	25.7	2258
08	44.3	2258
09	34.4	2090
10	34.5	2488
11	59.5	3262
14	39.4	2614
16	31.0	2278
17	20.3	1610
Promedio	37.6	2311
E.E.	3.5	121

## 5. DISCUSION:

Los resultados referentes a peso y talla antes y durante el embarazo permiten hacer algunas observaciones. El valor promedio de peso para talla fue  $91.5 + 10.4\%$ , el cual se considera normal. Sin embargo, 60% de las mujeres estudiadas presentaban déficit (considerado como peso/talla menor de 90%) al inicio del embarazo. El cambio de peso durante el embarazo fue inferior al considerado como normal. El promedio está por debajo del considerado como "muy insuficiente" (85) (Ver Figura 9). Sin embargo, excepto en 2 casos estas mujeres tuvieron hijos con peso considerado adecuado para la edad gestacional de acuerdo con el criterio de Lubchenco (45), lo que indicaría que consumieron sus reservas para mantener en buen estado al feto.

Los dos niños que presentaron al nacer peso bajo para su edad gestacional (Números 09 y 14) nacieron de una mujer con parto a las 37 semanas de embarazo (2074 g.) y una a término (39 semanas, 2415 g.). Estas mujeres tuvieron peso/talla adecuado previo al embarazo (mayor de 100%) pero presentaron pérdida de peso entre la 25 y la 40 semanas. Las placas pesaron menos que el promedio del grupo (190 y 201 g.). Esto parece indicar que la deficiencia calórica afecta el peso del niño al nacer y de la placenta, ya que existió correlación positiva entre peso de la placenta y peso del niño al nacer para todo el grupo. Para confirmar estos datos sería necesario realizar un estudio orientado en este sentido, y establecer una adecuada interpretación estadística de los datos obtenidos.

La talla de las mujeres estudiadas no difiere de la reportada en 1960 por Arroyave y col. (5). Como era de esperarse, los hábitos alimentarios de estas mujeres no mostraron cambios durante el embarazo. No se encontró alteración en los valores de presión arterial durante el período del estudio.

Los valores de hemoglobina, hematocrito y proteínas séricas son similares a los reportados en condiciones nutricionales adecuadas (alto nivel socioeconómico en (5), (52) ), probablemente porque la deficiencia nutricional no fue tan severa.

Los niveles de hierro encontrados en la población estudiada revelaron deficiencia de este elemento. Los promedios de hierro, Capacidad total de ligar hierro (CTLH) y porcentaje de saturación de la CTLH se encontraron por debajo de los niveles considerados como normales (84). Solo en 3 casos se presentó saturación de la CTLH por arriba de 20%, nivel considerado como normal, y 75% de las mismas se mantuvieron por debajo de 16%, nivel por debajo del cual se considera existe deficiencia (31).

Un estudio efectuado en la misma comunidad (Flores, A., comunicación personal) ha revelado deficiencia de hierro en niños entre 3 y 12 meses de edad. En el presente estudio los datos sobre saturación de la CTLH en el cordón umbilical se encuentran alterados por hemólisis de las muestras, lo que no permite establecer con claridad los valores reales de hierro en estos niños. Existe, pues, la posibilidad de que la deficiencia de hierro durante el embarazo produzca deficiencia en el feto y que esta sea la razón de los valores observados por Flores en los lactantes estudiados por él. Se requiere realizar un estudio prospectivo durante el embarazo y la lactancia para investigar esta posibilidad.

En todos los casos se encontró deficiencia de folatos durante el embarazo. También se encontró deficiencia en las sangres provenientes del cordón umbilical. Es posible que la deficiencia de folatos durante el embarazo produzca deficiencia en el feto y el recién nacido, lo cual deberá investigarse posteriormente.

La actividad de oxytocinasa aumenta curvilinearmente desde la 16 semana hasta el término del embarazo (51). Ba-

buna y Yenen (7) consideran como normal un incremento de 3.7 a 5 veces en la actividad al comparar la 22 con la 40 semanas. Titus y col. (71) de 5.7 a 22 veces, Hensleigh y Krantz (34) de 3 a 24 veces y Ances (3) 10 veces. En el presente estudio se encontró entre la 22-27 y la 40 semanas un incremento promedio de 3 veces en la actividad de oxytocinasa (de 0.2 a 0.6 nmoles/min/mg. de proteína, Figura 16), lo que podría indicar alguna alteración en el proceso de maduración normal de la placenta en las mujeres estudiadas.

La secuencia de cambios observada no difiere de la reportada por otros autores (3, 7, 71) en mujeres normales, lo que podría indicar que la alteración inducida por la malnutrición es más de tipo cuantitativo que cualitativo.

Hasta la fecha, no hay reportes en la literatura concernientes a actividad de oxytocinasa en homogenizado de placenta, tejido placentario o fracciones de la misma. Como parte del presente trabajo se estudiaron 3 placas provenientes de mujeres bien nutridas de alto nivel socioeconómico, con embarazos normales, atendidas en un hospital privado de la capital.

Los resultados de los análisis de oxytocinasa en estas placas se muestran en la Tabla 21.

TABLA 21

## OXYTOCINASA EN PLACENTAS PROVENIENTES DE MUJERES BIEN NUTRIDAS DURANTE EL EMBARAZO

Caso	Proteína mg./ml.*	nmoles/min./ ml**	A ct i v i d a d	nmoles/min./ mg. tejido
01	4.98	6.60	1.32	132
02	4.15	5.30	1.28	106
03	3.80	5.82	1.53	116
Promedio (E.E.)	4.30 (0.49)	5.91 (0.38)	1.38 (0.07)	118 (7.5)
Malnutridas $\bar{x}$ (E.E.)	3.15 (0.18)	9.15 (0.82)	3.12 (0.40)	183 (16.3)

\* Expresa equivalentes de albúmina bovina, fracción V.

\*\* Por ml. de homogenizado al 5%.

Se aprecia que existe menor actividad en placenta en las provenientes de mujeres bien nutritas. En estos casos la concentración de proteínas se encontró francamente mayor que en los del estudio de Jacaltenango. Nuevamente, pues, se encuentran alteraciones de tipo cuantitativo.

En los ensayos de fosfatasa alcalina los valores observados son más altos que los reportados en la literatura ya que se ha utilizado buffer de dietanolamina, el cual por ser fosforilable preserva mejor la actividad de la enzima que buffers inhibitorios como el de glicina (2, 8, 48), por lo que no pueden establecerse comparaciones directas.

El patrón de cambio de fosfatasa alcalina es similar a los patrones reportados en la literatura (49, 58). No hay alteraciones en el porcentaje de fosfatasa alcalina termoestable (63.6 + 9.2% del total comparado con 50-70% considerados normales al término del embarazo y durante el trabajo de parto (68) ) ni en la actividad en cordón umbilical (36).

La actividad de fosfatasa alcalina detectada en homogenizado de placenta fue, en su totalidad, termoestable, lo cual concuerda con el origen placentario de la fracción enzimática y con los datos existentes en la literatura (49).

Los resultados respecto a actividad enzimática en homogenizado de placenta se comparan con los de placenas provenientes de mujeres bien nutritas de alto nivel socioeconómico analizadas simultáneamente (Tabla 22).

TABLA 22

## ACTIVIDAD DE FOSFATASA ALCALINA EN 3 PLACENTAS PROVENIENTES DE MUJERES BIEN NUTRIDAS DURANTE EL EMBARAZO

Caso	A mmoles/hora/ml*	c mmoles/hora/mg prot.	t mmoles/hora/ml*	i mmoles/hora/g. tejido	v mmoles/hora/ml*	i mmoles/hora/g. tejido	d mmoles/hora/g. tejido
01	10.56		21.2				
02	10.66		25.7				
03	13.17		34.7				
Promedio (E.E.)	11.46 (0.86)		27.2 (3.4)				
Malnutridas x (E.E.)	11.56 (0.60)		37.6 (3.5)				

\* Actividad por ml. de homogenizado al 0.5%.

Evidentemente existe mayor actividad específica de la enzima en el grupo de Jacaltenango en relación a las mujeres bien nutritas. No hay diferencia en la actividad por ml. de homogenizado o por gramo de tejido. El peso de las placas del grupo bien nutrido fue similar al de las del estudio ( $266 \pm 13$  y  $285 \pm 61$  g., respectivamente).

En los casos estudiados, entonces, las placas fueron de tamaño similar a los casos bien nutridos de alto nivel socioeconómico, pero presentaron menor concentración de proteína y mayor actividad específica de fosfatasa alcalina termoestable y de oxytocinasa, lo que hace que no se encuentren alteraciones en los patrones de cambio de estas enzimas durante el embarazo. La repercusión funcional que tengan estas alteraciones y su efecto sobre el crecimiento y maduración del feto no pueden aun precisarse.

## 6. RESUMEN Y CONCLUSION

Se estudiaron en la Clínica prenatal del Hospital Jacaltenango, Jacaltenango, Huehuetenango, 17 mujeres con ingesta calórica y proteínica inadecuadas durante el embarazo. Se evaluaron periódicamente los niveles de actividad de oxitocinasa y fosfatasa alcalina termoestable en plasma, así como hemoglobina, hematocrito, proteínas séricas, hierro y folatos. Al término del embarazo se estudiaron el niño y la placenta.

Se encontró que todas presentaron ganancia de peso deficiente durante el embarazo, así como deficiencia de hierro en el 75 % de los casos y folatos en la totalidad de los mismos.

La actividad enzimática en plasma no se encontró alterada en cuanto al patrón de cambio de las dos enzimas estudiadas. Se demostró menor elevación en la actividad de oxitocinasa en plasma entre las 22-27 semanas y el fin del embarazo.

Los análisis mostraron mayor actividad específica de fosfatasa alcalina y de oxitocinasa en placenta en el grupo estudiado al compararlas con las placenas provenientes de mujeres bien nutridas de alto nivel socioeconómico, observándose menor concentración de proteínas en las primeras.

Los resultados sugieren que existen alteraciones cuantitativas en el proceso de maduración de la placenta en la Desnutrición Proteínico-Calórica. Deben realizarse más estudios para precisar el efecto que puedan tener sobre el crecimiento y desarrollo del feto.

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. ALLEN, I. H. and F. J. Zeman. Kidney function in the progeny of protein-deficient rats. J. Nutr. 103 (10): 1467-1478, oct. 1973.
2. AMADOR, E. Phosphorilatable buffers for serum alkaline phosphatase. Clin. Chem. 10 (1): 94, Jan. 1972.
3. ANCES, I. C. Observations on the level of blood oxytocinase throughout the course of labor and pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 113 (1): 291-295, Jan. 1972.
4. ANDERSEN, G. J., A. F. Connan, E. J. Cummings and R. L. Noble. Significance of maternal - weight patterns in pregnancy. Med. J. Austr. 2 (9): 427-429, Sept. 1, 1973.
5. ARROYAVE, G., W. H. Hicks, D. L. King, M. A. Guzmán, M. Flores y N. S. Scrimshaw. Comparación de algunos datos bioquímico-nutricionales obtenidos de mujeres embarazadas procedentes de dos niveles socioeconómicos de Guatemala. Rev. Col. Med. (Guatemala) 11 (2): 80-87, Jun. 1970.
6. AYALA, G. Efecto de la alimentación materna sobre el crecimiento fetal y la maduración del encéfalo de su progenie. Tesis (Bioquímico). Guatemala. Universidad de San Carlos-Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos, 1973, 48 p.
7. BABUNA, C. and E. Yenen. Enzymatic determination of placental function. A rapid method. Amer.

- J. Obstet. Gynecol. 96:925-934, 1966.
8. BERGMEYER, H. U. Standardization of enzyme assays. Clin. Chem. 18 (II): 1305-1311, Nov. 1972.
9. BETETA, C. Embarazo y Nutrición. Tesis (Médico y Cirujano). Guatemala. Universidad de San Carlos. Facultad de Ciencias Médicas, 1963. 98 p.
10. BOYER, S. H. Alkaline phosphatase in human sera and placenta. Science 34:1002-1004, 1961.
11. BRANDA, L. A. and B. M. Ferrier. Degradation of oxytocin by human placental tissue. Amer. J. Obstet. Gynecol. 109:943-947, 1971.
12. BRASEL, J. A. and M. Winick. Maternal nutrition and prenatal growth. Arch. Dis. Child. 47: 479-485, Aug. 1972.
13. CAMACHO, E. Efecto de la malnutrición proteínico-calórica y de la deficiencia de hierro sobre la capacidad fatocitica de leucocitos de rata. Tesis (Bioquímico). Guatemala. Universidad de San Carlos - Centro de Estudios Superiores en Nutrición y Ciencias de Alimentos. 1973. 84 p.
14. CHAPPELET-TORDO, D., M. Fosset, M. Iwatsubo, C. Cache and E. Lazdunski. Intestinal alkaline phosphatase. Catalytic properties and half of the sites reactivity. Biochemistry 13 (9): 1788-1795, 1974.
15. CIFUENTES, E. and F. Viteri. Physical fitness, iron deficiency and anemia in agricultural laborers of Central America. Fed. Proceed. 31 (2): 719, march-april 1972.
16. COBOS, F. Malnutrition and mental retardation. Conceptual issues. In: "Lipids, Malnutrition and the developing brain". Ciba foundation symposium. Amsterdam. Associated Scientific Publishers, 1972. Pp 227-248.
17. CANNAN, R. K. Hemoglobin standard. Science 127:1376-1378, 1958.
18. CURZEN, P. and C. Southcombe. The relationship between heat-stable alkaline phosphatase in maternal serum and urinary oestrogen output. J. Obstet. Gynecol. Brit. Commonw. 77:97-99, 1970.
19. CURZEN, P. and R. Varma. A comparison of serum cystine aminopeptidase and urinary estrogen excretion as placental function tests. Amer. J. Obstet. Gynecol. 115:929-932, 1973.
20. DOBBING, S. Vulnerable periods of brain development. In: Lipids, Malnutrition and the developing brain. Ciba foundation symposium. Amsterdam. Associated Scientific Publishers, 1972. Pp 9-29.
21. ELDER, M. G. Serum heat-stable alkaline phosphatase levels in normal and abnormal pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 113:833-837, 1972.
22. ENWONWU, C. O. and V. Clover. Effect of maternal malnutrition during pregnancy and lactation on hepatic protein metabolism in the infant rat. Biochemical and ultra structural studies. Amer. J. Clin Nutr. 26 (1): 3-16, Jan. 1973.
23. FIGUEROA, M. Efecto de la alimentación materna sobre el desarrollo y maduración fetal y durante

- la lactancia. Tesis. (Químico Biólogo). Universidad de San Carlos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala, 1973. 81 p.
24. FISHMÁN, W. H. and N. K. Ghosh. Isoenzymes of human alkaline phosphatase. Adv. Clin. Chem. 10:256-370, 1967.
25. FISHMAN, W. H., N. R. Inglis and N. K. Ghosh. Distinctions between intestinal and placental isoenzymes of alkaline phosphatase. Clin. Chim. Acta 19:71-79, 1968.
26. FISHMAN, W. H. and H.-G. Sie. Organ-specific inhibition of human alkaline phosphatase isoenzymes of liver, bone, intestine and placenta; L-phenylalanine, L-tryptophan and L-homoarginine. Enzymologia 41 (3): 141-167, 1971.
27. FOSSET, M., D. Chappelet-Tordo and M. Lazdunski. Intestinal alkaline phosphatase. Physical properties and quaternary structure. Biochemistry 13(9): 1783-1788, April 1973.
28. FRIEDMAN, M. M., B. Lapan and T. H. Taylor. Variations of enzyme activities during normal pregnancy. Amer. J. Obstet. Gynecol. 82:132-137, 1961.
29. GREEN, S., C. L. Antiss and W. H. Fishman. Automated differential isoenzyme analysis. II. The fractionation of serum alkaline phosphatases into "liver", "Intestinal" and "other" components. Enzymologia 41:9-26, 1971.
30. GUEST, G. M. and V. E. Siler. A centrifuge method for the determination of volume of cells in the blood. J. Lab. Clin. Med. 19:757, 1934.
31. HADDY, T. B., C. Jurkowiki, H. Brody, D. J. Kallen and D. E. Czajka. Iron deficiency with and without anemia in infants and children. Amer. J. Dis. Child. 128 (6): 787-796, Dec. 1974.
32. HARTREE, E. F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Anal. Biochem. 48:422-427, 1972.
33. HAUSAMEN, T.-U., R. Helger, W. Rick and W. Gross. Optimal conditions for the determination of serum alkaline phosphatase by a new kinetic method. Clin. Chim Acta 15:241-245, 1967.
34. HENSLEIGH, P. A. and K. E. Krantz. Oxytocinase and placental function. Amer. J. Obstet. Gynecol. 107:1233-1240, 1970.
35. HERBERT, V., R. Fisher, and B. J. Koontz. The assay and nature of folic acid activity in human serum. J. Clin. Invest. 40 (1): 81-91, Jan. 1961.
36. HILDEBRAND, D. C., Z. Fahim, E. James and E. Fahim. Ceruloplasmin and alkaline phosphatase levels in cord serum of term, preterm and physiologically jaundiced neonates. Amer. J. Obstet. Gynecol. 118 (7): 950-954, April 1, 1974.
37. LAGA, E. M., S. G. Driscoll and H. N. Munro. Comparison of placentas from two socioeconomic groups. I. Morphometry. Pediatrics 50: 24-32, July 1972.
38. LAGA, E. M., S. G. Driscoll and H. N. Munro. Comparison of placentas from two socioeconomic groups. II. Biochemical characteristics. Pediatrics 50:33-39, July 1972.

39. LECHTIG, A., J.-P. Habitch, E. de León, G. Guzmán and M. Flores. Influencia de la nutrición materna sobre el crecimiento fetal en poblaciones rurales de Guatemala. Arch. Latin. Nutr. 22 (1): 101-115, Marzo 1972.
40. LECHTIG, A., J.-P. Habitch, E. de León and G. - Guzmán. Influencia de la nutrición materna sobre el crecimiento fetal en poblaciones rurales de Guatemala. II. Suplementación alimentaria. Arch. Latin. Nutr. 22 (1): 117-132, marzo 1972.
41. LECHTIG, A., J.-P. Habitch, G. Guzmán y E. de León. Morbilidad materna y crecimiento fetal en poblaciones rurales de Guatemala. Arch. Latin. Nutr. 22 (2): 243-253, junio 1972.
42. LECHTIG, A., J.-P. Habitch, G. Guzmán y E. M. Girón. Influencia de las características maternas sobre el crecimiento fetal en poblaciones rurales de Guatemala. Arch. Latin. Nutr. 22(2): 256-265, Junio 1972.
43. LEROUX, M. L. and W. F. Perry. Some characteristics of placental alkaline phosphatase of a variety of mammals. Enzymologia 41:241-248, - 1971.
44. LEVINE, B. and W. Wood. Maternal serum alkaline phosphatase and placental function. Amer. J. Obstet. Gynecol. 91:967-971, 1965.
45. LUBCHENCO, L. O., D. T. Searle, and J. U. Brazie. Neonatal mortality rate. Relationship to birth weight and gestational age. J. Pediat. 81 (4): 814-822, Oct. 1972.

46. MANNING, J. P., N. R. Inglis, S. Green and W. H. Fishman. Caracterization of placental alkaline phosphatase from the rabbit, guinea pig, - mouse and hamster. Enzymologia 30 (5): 307-318; Nov. 1970.
47. MATA, L. J., J. J. Urrutia, C. Albertazzi, O. Peñecer and E. Arellano. Influence of recurrent infections on nutrition and growth of children in Guatemala. Amer. J. Clin. Nutr. 25:1267-1275, Nov. 1972.
48. McCOMB, R. S. and G. N. Bowers. Study of optimum buffer conditions for measuring alkaline - phosphatase activity in human serum. Clin. Chem. 18:97-104, Feb. 1972.
49. McMASTER, Y., R. Tenant, J. S. Clubb, F. C. - Neale and S. Posen. The mechanism of elevation of serum alkaline phosphatase in pregnancy. J. Obstet. Gynecol. Brit. Commonw. 71:735-739, Oct. 1963.
50. MEADE, B. W. and S. R. Rosalki. Serum enzyme activity in normal pregnancy and the newborn. - J. Obstet. Gynecol. Brit. Commonw. 70:693-700, Oct. 1963.
51. MELANDER, S. Plasma oxytocinase activity. A methodological study with special reference to - pregnancy. Acta Endocr. 48 (Suppl. 96): 1-94, 1965.
52. MENDEZ, J., E. Castellanos y G. Arroyave. Uso del método del biuret en la determinación de proteínas séricas y sus fracciones. II. Valores en la población normal y en el embarazo. Rev. Col. Med. (Guatemala) 8 (3):172-175, sept. - 1957.

53. MESSER, R. H. Heat-stable alkaline phosphatase as an index of placental function. Amer. J. Obstet. Gynecol. 93:459-465, Junio 15, 1967.
54. NAISMITH, D. J. and C. Ritchie. The protein cost of pregnancy. Proc. Nutr. Soc. 32 (I): IA-2A, May 1973.
55. NEALE, F.C., J. S. Clubb, D. Hotchkis and S. Posen. Heat stability of human placental alkaline phosphatase. J. Clin. Pathol. 18: 359-363, May. 1965.
56. PAGE, E. W., M. Titus, G. Mohun and M. B. Glen dening. The origin and distribution of oxytocinase. Amer. J. Obstet. Gynecol. 82:1090-1095, Nov. 1961.
57. PINEDA, O. Malnutrition, infection and human polymorphonuclear leukocyte metabolism. Fed. Proceed. 31 (2): 710, march-april 1972.
58. QUIGLEY, G. J., R. T. Richards and K. J. Shier. Heatstable alkaline phosphatase. A parameter of placental function. Amer. J. Obstet. Gynecol. 106 (3): 340-351, Feb. 1, 1970.
59. RAMSAY, W. N. M. The determination of iron in blood plasma or serum. Biochem. J. 53:227-231, Feb. 1953.
60. RHONE, D. F. and F. M. Mizuno. Separation of isoenzymes of alkaline phosphatase by substrate-gel imprint after electrophoresis on cellulose acetate. Clin. Chem. 18 (7): 662-666, July 1972.
61. ROEDER, L. M. and B. F. Chow. Maternal undernu

- trition and its long-term effect on the offspring. Amer. J. Clin. Nutr. 25:812-821, Aug. 1972.
62. RUBINI, M. E. and A. V. Wolf. Refractometric determination of total solids and water of serum and urine. J. Biol. Chem. 225 (2): 869-876, April 1957.
63. SALOMON, J., R. E. Klein, M. A. Guzmán y C. Canosa. Efectos de la nutrición e infecciones sobre el desarrollo óseo en niños en un área rural en Guatemala. Arch. Latin. Nutr. 22 (3): 417-449, Sept. 1972.
64. SCRIMSHAW, N. S., C. E. Taylor and J. E. Gordon. Interactions of nutrition and infection. - Géneva. WHO, 1968. Pp. 124-142. (WHO monograph series, No. 97).
65. SHOEMAKER, W. J. and H. J. Wurtman. Effect of perinatal undernutrition on the metabolism of catecholamines in the rat brain. J. Nutr. 103 (II): 1537-1547, Nov. 1973.
66. SMALL, W. and W. B. Watkins. An improved method for the determination of human pregnancy serum oxytocinase activity. Enzymologia 41:121-128, Aug. 1971.
67. SMART, J. L., J. Dobbing, B. P. F. Adlard, A. - Lynch and J. Sands. Vulnerability of developing brain: relative effects of growth restriction during the fetal and suckling periods on behavior and brain composition of adult rat. J. Nutr. - 103 (9): 1327-1338, Sept. 1973.
68. SUSSMAN, H. H., M. Bowman, and J. L. Lewis. Placental alkaline phosphatase in maternal serum

- during normal and abnormal pregnancy. Nature (Lond.) 218:359-360, April 27, 1968.
69. SVENNERHOLM, L., C. Alling, A. Bruce, L. Karlsson and O. Sapia. Effects on offspring of maternal malnutrition in the rat. In: "Lipids, - Malnutrition and the developing brain". Ciba foundation symposium. Amsterdam. Associated Scientific Publishers, 1972. Pp. 141-157.
70. THOMAS, D. M. and D. W. Moss. Chemical modification of alkaline phosphatases. Enzymologia 42 (1):65-77, Jan. 1972.
71. TITUS, M. A., D. R. Reynolds, M. B. Glendening and E. W. Page. Plasma aminopeptidase activity (oxytocinase) in pregnancy and labor. - Amer. J. Obstet. Gynecol. 80:1124-1128, Dec. 1960.
72. TREMALY, P.C., Syburski, S. and G. B. Maughan. Role of the placenta in fetal malnutrition. - Amer. J. Obstet. Gynecol. 91 (5): 597-605, March 1, 1965.
73. TSANG, R., C. J. Glueck, G. Evans and P. M. Steiner. Cord blood hypertriglyceridemia. - Amer. J. Dis. Child. 127 (1):78-82, Jan 1974.
74. VALDES, V. E. Efecto de la Desnutrición Proteínico-Calórica y de la deficiencia de hierro sobre la habilidad fagocítica del leucocito. Tesis. (Nutricionista) Guatemala. Universidad de San Carlos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Nutrición. 1972. 48 p.
75. VALVERDE, V. Efecto de la mala nutrición sobre la actividad de enzimas lisosomiales del leucoci-

- to polimorfonuclear neutrófilo. Tesis (Nutricionista). Guatemala. Universidad de San Carlos. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Nutrición. 1972. 64 p.
76. VITERI, F. Considerations on the effect of nutrition on the body composition and physical working capacity of young Guatemalan adults. In: - Scrimshaw, N. S. and A. M. Altachul, eds. - "Aminoacid fortification of protein foods". Report of an International conference held at the - Massachussets Institute of Technology. Sept. - 16-18, 1969. Cambridge, Mass. MIT Press, 1971. Pp. 350-375.
77. VITERI, F. Efecto de ejercicio e inactividad física sobre el crecimiento y la eficiencia de utilización de la dieta en ratas alimentadas ad-libitum y con restricción calórica. En: "Reunión de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición y Seminario sobre ambiente biológico y nutrición, Tercera. Resúmenes de Trabajos". Celebrada en la Sede del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Guatemala, 11-14 Sept. 1972. Pág. 62.
78. VITERI, F. Infección y Nutrición. En: Meneghelli, J., ed. "Pediatría". Buenos Aires, Intermédica, 1972. Tomo I, Pp. 353-361.
79. VITERI, F. y J. Alvarado. El Problema de la Desnutrición proteínico-calórica en el istmo centroamericano. Guatemala. INCAP, 1970. (Monografía 7).
80. VITERI, F. y E. Cifuentes. Capacidad física en trabajadores agrícolas de la costa de Guatemala antes y después de la terapia con hierro. En: "Reu-

nión de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición y seminario sobre ambiente biológico y nutrición, Tercera. Resúmenes de trabajos". Celebrada en la sede del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP). Guatemala, 11-14 Sept. 1972. Guatemala, INCAP, 1972. Pág. 63.

Br. Claudio A. Ramírez R.

81. VITERI, F. and B. Torún. Anaemia and physical work capacity. Clinics in Haematol. 3 (3):609-626, Oct. 1974.

Dr. Oscar Pineda  
Asesor

Dr. Fernando Viteri  
Revisor

82. VITERI, F., B. Torún, C. Galicia and E. Herrera. Caloric balance of agricultural labor populations in Central America. Fed. Proceed. 31 (2): 719, march-april 1972.

83. WINICK, M., P. Rosso. and J. A. Brasel. Malnutrition and Celular growth in the brain. Existence of critical periods. In: Lipids, malnutrition - and the developing brain. Ciba foundation symposium. Amsterdam. Associated Scientific Publishers, 1972. Pp. 199-212.

Dr. Julio de León M.  
Director Fase III

84. WINTROBE, M.M. et. al., eds. Harrison, Medicina Interna. 4 ed. México. La Prensa Médica Mexicana, 1973. Pp. 2245-2246.

Vo. Bo.

85. INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA. Boletín de Educación Nutricional.- Año VI, número 12. Junio 1961.

Dr. Mariano Guerrero R.  
Secretario

Dr. Carlos A. Soto  
Decano

86. INSTITUTO DE NUTRICION DE CENTRO AMERICA Y PANAMA. Informe anual I de enero-31 de diciembre de 1972. Guatemala, INCAP, julio 3-6 de 1973.

87. FETOPLACENTAL FUNCTION TESTS. Lancet 2:947-948, Oct. 27, 1973.

Vo.Bo.  
Aura E. Singer  
Bibliotecaria