

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

Investigación de reacciones provocadas por intercambios materno-fetales. Su aplicación al diagnóstico prenatal del sexo

MAXIMILIANO RUIZ-CASTAÑEDA*

Mediante la prueba de fijación en superficie ha sido posible reconocer sustancias anormales en el suero de mujeres con embarazos normales o con fetos genéticamente modificados. El hecho de poder demostrar diferencias inmunológicas entre proteínas masculinas y femeninas, ha permitido desarrollar un procedimiento rápido para el diagnóstico prenatal del sexo y por lo que se refiere a la investigación de productos patológicos, se menciona la búsqueda de anticuerpos estimulados por antígenos relacionados con el síndrome de Down. Como aplicación con fines solamente de utilidad práctica, se sugiere aprovechar este procedimiento de fácil manejo en la industria pecuaria.

Disponiendo de un método de fácil aplicación para reconocer reacciones inmunológicas, nos ha parecido que podríamos utilizarlo para agregar nuestro esfuerzo en resolver un problema que por milenios ha sido objeto de múltiples intentos de predecir el sexo de los niños antes de nacer, intentos que solamente a principios de este siglo empezaron a tener bases científicas. Citando los que más llamaron la atención, diremos que los trabajos de Manoilov¹ sobre procedimientos bioquímicos parecen tener prioridad cronológica; después, las pruebas intradérmicas de Vargas,² los de Dorn y Sugarman, quienes emplearon inoculaciones de orina de mujeres gestantes en los genitales de conejos,³ más pruebas intradérmicas con extractos testiculares por Davis⁴ y los trabajos de Richardson, que más tarde se realizaron con Rapp⁵ para determinar la presencia de hormonas sexuales en la saliva de mujeres gestantes. Sin embargo, estos tra-

bajos, basados en la investigación de la presencia o su efecto de las hormonas fetales, no tuvieron suficiente confirmación como para asegurar su validez como prueba de investigación prenatal del sexo. De mayor solidez han sido los trabajos de Barr y col.,⁶ quienes revelaron que ciertos cuerpos de cromatina son característicos de celdillas de origen femenino. Sin embargo, el mismo Barr advierte que como prueba prenatal puede ser interpretada erróneamente en circunstancias genéticas anormales.

Como la investigación para diagnóstico prenatal requiere cierta cantidad de líquido amniótico, que hay que obtener por punción transabdominal y uterina, Fuchs, quien ha estudiado extensamente el método de Barr, comenta que si por satisfacer la curiosidad de los padres hay que exponer a la madre a riesgos imprevisibles, no se justifica recurrir a tal procedimiento.⁷

Dadas las limitaciones del método derivado de las observaciones de Barr, y teniendo en cuenta la rapi-

* Académico honorario. Hospital Infantil de México.

dez y sensibilidad de nuestro procedimiento de fijación en superficie (F.S.), procedimos a practicar reacciones con mezclas de un suero de conejos inmunizados con testosterona (Sigma), que nos permitió reconocer la presencia de esa hormona en el suero de madres de fetos masculinos y mediante pruebas con el mismo suero y un preparado de testosterona, revelar la presencia de los correspondientes anticuerpos. Mediante esta doble prueba, la predicción de sexo masculino, resultó correcta cuando nacieron niños, pero fue errónea en algunos casos en que nacieron niñas. La investigación sobre estas discrepancias reveló que en algunos casos pudo deberse a exagerada proporción de testosterona materna y en otros, por persistencia de anticuerpos para testosterona provenientes de un embarazo masculino anterior. Estas observaciones invalidaron nuestros primeros ensayos de predicción antenatal del sexo.

Considerando que durante la gestación hay transferencia de proteínas fetales a través de la placenta y de que, mediante la prueba de F. S., pudimos demostrar diferencias inmunológicas entre proteínas masculinas y femeninas, procedimos a practicar pruebas con sueros de conejos inmunizados con proteínas fetales, con lo que pudimos reconocer la presencia de fetoproteínas de uno u otro sexo en el suero materno. También, con pruebas practicadas con el mismo suero mezclado con proteínas fetales, se reveló la presencia de los anticuerpos correspondientes. Por lo que se refiere a posibles inconvenientes ocasionados por persistencia de sustancias anormales, como en el caso de las hormonas sexuales, tuvimos en cuenta las observaciones de Seppala y Ruoslahti,⁸ quienes encontraron que la media vida postpartum de las fetoproteínas no pasa de una semana. Así también en nuestra experiencia, pruebas practicadas con el suero de mujeres que habían dado a luz uno o dos meses antes, produjeron reacciones dudosas o negativas.

Por lo expuesto y esperando que este procedimiento no sea considerado solamente como un recurso más para satisfacer la curiosidad paterna, sino para aprovecharlo en investigaciones de mayor trascendencia como para reconocer la presencia en el suero materno de anticuerpos estimulados por fetos con anomalías genéticas, como es el caso de las resultantes de trisomía o translocación del cromosoma 21,⁹ creemos que lo que esperamos aclarar en la presente comunicación, sirva como estímulo para la resolución de problemas que se presentan en el manejo de especies animales de evidente significación económica.

Método de fijación en superficie (F.S.)

La prueba de F.S. es un procedimiento rápido que permite reconocer reacciones inmunológicas en mezclas de un antígeno con el correspondiente anticuerpo. Al parecer, bajo la acción del antígeno, las inmunoglobulinas sufren alteraciones, que se manifiestan tanto por adherirse al papel en que se depositan las

mezclas como por retener el colorante empleado para revelarlas; pero con tal persistencia, que resisten al lavado que descolora pruebas en que se mezcla suero normal con el mismo antígeno. Este procedimiento, descrito en detalle en comunicaciones anteriores,^{10,11} ha sido empleado con fines diagnósticos en ciertas infecciones bacterianas, de protozoarios y por virus, así como para revelar la presencia de anticuerpos para antígenos solubles y hasta para ciertos productos terapéuticos.

Material y métodos

Suero antifetoproteínas. La inmunización de conejos se hizo empleando proteínas extraídas de placentas humanas, prefiriendo material obtenido por cortesía del Instituto Merieux (Francia) en que numerosas placentas son sometidas a tratamiento destinado a retirar por fuerte presión la mayor cantidad de sangre. El producto fue desecado y reducido a polvo fino. El polvo se trató con acetona, conservándose a temperatura del laboratorio durante varios días. Después fue sometido a extracción con solución amortiguadora de fosfatos de pH 8, conservando la mezcla en refrigeración a 4°C. durante una semana. Por centrifugación se obtuvo una solución que contenía aproximadamente 350 mg/dl. de proteína placentaria. Se preparó una emulsión con un volumen igual de aceite mineral, con 5 por ciento de lanolina.

Se administraron a conejos, por vía subcutánea, 2 a 3 ml. de la emulsión, ocho veces, una vez por semana, obteniéndose la sangre después de diez días de la última inyección. Porciones del suero fueron tratadas, una con suero del cordón umbilical de un niño y otra con suero de una niña, de manera que después de absorbidos conservaron anticuerpos para el sexo opuesto. Los sueros así tratados fueron empleados para revelar la presencia, en el suero de mujeres gestantes, de fetoproteína masculinas o femeninas.

Proteínas fetales monovalentes. Placentas de uno y otro sexos, por separado, se liberaron de membranas y sangre, se redujeron a masa uniforme en un molino de carne y se sometieron a nuevo lavado en agua corriente. Después de exprimidas, se mezclaron con alcohol etílico y se mantuvieron a temperatura del laboratorio 24 horas. Eliminado el alcohol, la masa se sometió a desecación bajo un ventilador eléctrico. La masa seca se redujo a polvo mediante una licuadora Waring. El polvo se trató con acetona y después con solución amortiguadora, como en el caso anterior. De esa manera se obtuvieron soluciones monovalentes que fueron igualadas en contenido proteínico y empleadas para revelar la presencia de anticuerpos para fetoproteínas masculinas o femeninas.

El material para la práctica de reacciones inmunológicas, en relación con el síndrome de Down, así como los procedimientos para revelarlas, han sido objeto de una comunicación anterior.⁹

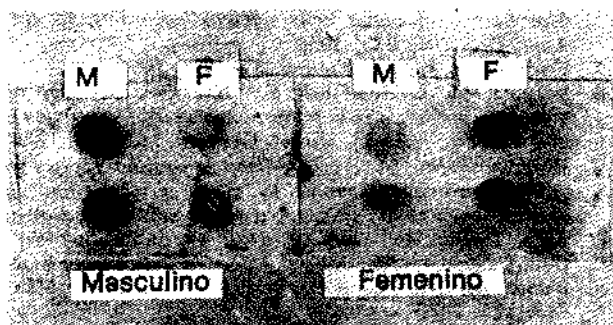


Fig. 1 Prueba de fijación en superficie para diagnóstico prenatal de sexo.

A la izquierda, diagnóstico de sexo masculino. A la derecha, diagnóstico de sexo femenino. M - Fetoproteína masculina; F - Fetoproteína

Investigación de fetoproteínas en el suero materno. Sobre una lámina de vidrio se preparan mezclas de los reactivos depositados con asas de unos 2 mm. de diámetro, uno con suero problema y suero antimasculino y otra con suero antifemenino. A cada mezcla puede agregarse suficiente solución salina isotónica. Con asas distintas se transfieren porciones de las mezclas, procurando imprimir pequeños círculos de unos 5 mm. de diámetro sobre tiras de papel especial LKB. El líquido sobrante puede absorberse con una tira de papel Whatman No. 40. Las tiras se tratan con bromofenol y alcohol ácido, según procedimiento antes descrito, diferenciándose la reacción bajo el chorro del agua corriente. Salvo casos de embarazo doble o múltiple, es de esperarse que los círculos preparados con uno de los sueros antifetales retenga el colorante, en tanto que los otros se descoloren.

Investigación de anticuerpos estimulados por las fetoproteínas. Se procede en forma semejante a la preparación de la prueba anterior, pero empleando en las mezclas las proteínas de placentas de origen masculino y femenino. Los resultados deben ser concordantes con lo obtenido en la primera prueba. La figura 1 ilustra pruebas que sugieren la manera de proceder para pronosticar de qué sexo será la criatura esperada. Toda prueba positiva de diagnóstico prenatal del sexo debe ser confirmada con diluciones del mismo suero.

Investigación de anticuerpos en el suero de las madres de niños mongoloides. La prueba puede practicarse empleando como antígeno revelador el suero sanguíneo o el extracto de orina de un niño mongoloide.

Como toda prueba rápida, es conveniente tener en cuenta posibles deficiencias técnicas, por lo que antes de formular un pronóstico o dictamen definitivo, hay que repetir las pruebas tantas veces como se juzgue necesario.

Resultados

Hemos practicado varios centenares de pruebas de pronóstico prenatal del sexo, primero mediante reacciones preparadas para reconocer testosterona fetal y antitestosterona. Más tarde, cuando reconocimos las limitaciones del primer recurso inmunológico, investigamos la presencia de fetoproteínas y sus anticuerpos.

Por ambos procedimientos obtuvimos la convicción de que por medio del método de F.S. es posible reconocer todo tipo de sustancias anormales en el suero sanguíneo, no sólo de mujeres embarazadas, sino como consecuencia de procesos infecciosos diversos y hasta de ciertas condiciones atópicas. Los resultados obtenidos al aplicar esta prueba con fines de satisfacer la curiosidad paterna, nos han sugerido utilizarla para descubrir productos anormales transferidos a la circulación materna en situaciones provocadas por anomalías cromosómicas, tales como las que resultan de trisomías o translocaciones del cromosoma 21. Gracias a la valiosa colaboración del personal del Departamento de Genética del Hospital Infantil de México, pudimos disponer de suficiente número de casos con síndrome de Down, así como de la sangre de las madres de esos pacientes. Por fortuna, contamos con la colaboración del Centro de Investigaciones Perinatales de donde esperamos recibir sueros de mujeres de edades en que un embarazo puede considerarse como expuesto a presentar riesgos potenciales.

Hasta la fecha, sin tener en cuenta lo observado en madres de niños mongoloides, las pruebas practicadas han sido negativas, pero hay que advertir que de encontrar reacciones positivas, estas deben interpretarse con precaución, pues madres que han tenido niños con síndrome de Down, continúan presentando anticuerpos hasta por varios años, por lo que es urgente referir estos casos a centros especializados en estudios genéticos, que son los más autorizados para aconsejar la conducta más conveniente.

Por lo expuesto y en vista de la facilidad de practicar pruebas prenatales por el método de F. S. y la posible utilidad de advertir la presencia de fetos anormales, creemos que se justifica aconsejar este recurso inmunológico durante los tres primeros meses de embarazo.

Si por medio de la prueba de F.S. ha sido posible la determinación antenatal del sexo en humanos, no hay razón para que lo mismo no pueda aplicarse a ciertas especies animales, especialmente en los bovinos en que el nacimiento de productos masculinos es poco deseable. A este propósito, hemos logrado llamar la atención de personas responsables de investigaciones relacionadas a la industria pecuaria, quienes han considerado la posible aceptación de una prueba tan sencilla como la que les hemos sugerido.

REFERENCIAS

1. Manoilov, E. O.: *Chemical reaction of blood for detection of sex in man, animals and plants*. Amer. J. Phys. Anthropol. 13: 29, 1929.
2. Vargas, C. A.: *Sex experimental determination*. Report. Med. y Cir. (Chile) 22: 462, 1931.
3. Dorn, J. E. y Sugarman, E. L.: *Method of prediction of sex in newborn. Effect of injection of urine from pregnant on tests of rabbits. (Preliminary report)*. J.A.M.A. 99: 659, 1932.
4. Davis, H.: *New method of prediction of sex of foetus by intradermal injection of testicular extracts*. New Engl. J. Med. 2: 10, 1934.
5. Rapp, W. y Richardson, G. C.: *Saliva test for prenatal sex determination*. Science 115: 265, 1952.
6. Barr, M. L.; Bertram, L. F. y Lindsay, H. A.: *Morphology of nerve cells nucleus according to sex*. Anat. Rec. 107: 283, 1952.
7. Fuchs, F. y Riis, P. Nature 177: 330, 1956.
8. Seppala, M. y Ruoslahti, E.: *Radioimmunoassay of maternal serum alpha fetoproteins during pregnancy and delivery*. Amer. J. Obstet. Gynecol. 112: 208, 1972.
9. Ruiz Castañeda, M.: *Surface fixation method applied to antigen-antibody reactions in mixtures of serum of mother and child affected with Down's syndrome*. Arch. Invest. Med. (Méx.). (Por ser publicado).
10. Ruiz Castañeda, M.: *Investigación de anticuerpos ambianos por fijación en superficie*. GAC. MÉD. MÉX. 110: 121, 1975.
11. Ruiz Castañeda, M.; De la Torre, y Aubanel, M.: *Investigación de antígeno circulante en amibiasis invasora*. GAC. MÉD. MÉX. 112: 395, 1976.

XVII CONGRESO NACIONAL DE PEDIATRIA II ASAMBLEA MEXICANA DE PEDIATRIA

Organizados por los pediatras de México, en conmemoración del quincuagésimo aniversario de la Sociedad Mexicana de Pediatría y décimo de la Sociedad Mexicana de Enfermeras Pediatras.

Asociación Mexicana de Pediatría

Confederación Nacional de Pediatría

30 de abril a 4 mayo de 1980.

COMISION ORGANIZADORA:

Presidente: Dr. Luis Torregrosa

Coordinador general: Dr. Silvestre Frenk

Tesorero: Dr. Giovanni Porras

Mayores informes: Calle doctor Márquez No. 162 México 7, D.F.