

Determinación de zinc en placenta por espectrometría de absorción atómica

J.A. Cocho de Juan, D. Castiñeiras, J.R. Alonso Fernández, J. Peña, J. Fraga

Se ha determinado el contenido de zinc de un grupo de muestras de placenta humana. La destrucción de la materia orgánica se realizó por vía húmeda haciendo uso de reactores de presión. El tejido seco y triturado se trató para ello con una mezcla de ácido sulfúrico y ácido nítrico concentrados.

La determinación se hizo por espectrometría de absorción atómica con llama usando el método de adición. Se controla la técnica usando un patrón de hígado de vaca suministrado por el National Bureau of Standards, referencia 1577a. El coeficiente de variación del método empleado fue del 3,3%.

El valor medio del contenido de zinc en las 58 placentas estudiadas fue de 0,80 mmol/kg de placenta seca, con un intervalo de referencia de 0,56 a 1,14 mmol/kg placenta seca.

Zinc level of human placenta were determined. Destruction of organic matter were made, after dry and homogenization, using sulphuric and nitric acids with (PTFE) "teflon" reactors.

Atomic Absorption Spectrophotometry measurements were made by the method of addition. The precision of method was CV 3.3%, and for accuracy studies we make use of a standard 1577a of (National Bureau of Standards).

Zinc levels in 58 human placentas was measured. We found a mean zinc concentration of 0.80 mmol/kg dry placenta. The reference interval found was 0.56 - 1.14 mmol/kg dry placenta.

Introducción:

La exposición de la población a los elementos traza se debe esencialmente a los alimentos (1); también pueden absorberse por vía respiratoria, pero las concentraciones atmosféricas en la mayoría de los casos son insignificantes (caso del zinc), lo que permite despreciarlas en comparación con la absorción por vía digestiva.

Se conoce asimismo que los metales se concentran selectivamente en algunos tejidos (2,3) y se han utilizado con mucha frecuencia los contenidos de los elementos traza en los distintos tejidos para conocer el nivel de exposición o ingestión de éstos.

El desarrollo fetal representa probablemente uno de los grupos de mayor vulnerabilidad a los efectos de los elementos traza, y son numerosos los trabajos en que se han descrito casos de aborto o malformaciones fetales debido a la exposición o déficit por parte de la futura madre a diversos elementos traza y en concreto al zinc (4, 5, 6, 7, 8, 9).

La placenta humana ha sido utilizada como indicador del estado nutricional del feto y de la madre con respecto a algunos elementos traza (10, 11, 12).

En el presente trabajo hemos planteado el uso del teji-

Laboratorio de Alteraciones Metabólico-Genéticas y Nutricionales. Departamento de Pediatría. Hospital General de Galicia. Facultad de Medicina. Universidad de Santiago de Compostela. Apartado 149. Santiago de Compostela

do placentario como indicador del estado nutricional del feto y realizado un estudio del contenido de zinc.

Asimismo, dado que no hemos encontrado antecedentes bibliográficos, hemos planteado el posible uso del cordón umbilical como indicador del contenido de zinc en el tejido placentario. Esto simplifica la toma de muestra al no ser necesario hacer ninguna operación sobre el tejido en el momento de la recogida.

Material y métodos

Las 58 muestras de placenta analizadas corresponden a otros tantos partos normales realizados en el Hospital General de Galicia. Fueron elegidos al azar durante los cuatro meses del período de marzo a junio. La edad de las madres que procedían de distintas zonas de Galicia osciló entre 17 y 42 años, aunque el 80% de ellas tenían entre 20 y 35 años.

Asimismo se recogió una placenta entera con su correspondiente cordón para verificar la representatividad de la toma de muestra.

La toma de muestra se realizó según la siguiente sistemática: se extrajo la placenta, que se pesó y seguidamente se seccionó en sentido vertical. A continuación se tomó en espesor, un fragmento desde el centro de la superficie embrionaria hasta el borde de la placenta. Se lavó con agua calidad reactivo (Milli-Q, Millipore) y se exprimó para expulsar la sangre, se dejó reposar y finalmente se congeló a -20°C hasta el momento de su análisis.

Una vez descongeladas las muestras, cada fragmento se llevó a una placa de Petri, se enjuagó varias veces con agua calidad reactivo y a continuación se llevó a la estufa a 110°C durante al menos tres horas. La muestra seca se trituró en un mortero de vidrio antes de proceder a la destrucción de la materia orgánica.

La destrucción se realizó por vía húmeda según el método descrito por Paus (13), utilizando una mezcla de ácidos nítrico y sulfúrico. A continuación, 0,1 g de placenta seca, triturada y homogeneizada se llevaron a una bomba de teflón de baja presión, de 7 mL de capacidad total ("Tuf Tainer[®]", Pierce ref.-14040). Se le añadieron 0,5 mL de ácido nítrico (Merck-456) y 0,2 mL de ácido sulfúrico (Merck-731) y se calentó a 105°C durante 30 min. Finalmente se llevó a un matraz junto a los enjuagues y se enrasó a 100 mL.

Todo el material de vidrio utilizado en la manipulación de las muestras fue tratado con ácido nítrico 1,6 mol/L durante al menos 48 horas.

La determinación se realizó por espectrometría de absorción atómica con llama (PERKIN-ELMER, mod. 460). Se empleó un corrector de fondo de deuterio. La llama usada fue aire-acetileno. Las medidas se hicieron en continuo con un tiempo de integración de 3 segundos. El calibrado se hizo por el método de adición de patrones.

Para el estudio de la precisión se utilizaron 5 porciones de una misma placenta, después de triturada y homogeneizada, obteniéndose un valor medio de 0,78 mmol/kg y una desviación estándar de 0,26 mmol/kg (coeficiente de variación de 3,3%).

Para el estudio de exactitud del método se utilizó el patrón de hígado de vaca suministrado por el National Bureau of Standards de referencia 1577a. El valor medio obtenido en 3 determinaciones sucesivas fue 1,82 mmol/kg de tejido seco, con una desviación estándar de 0,061 mmol/kg.

Tabla I

Contenido de zinc en placenta (seca) (mmol/kg)

n	\bar{x}	Intervalo referencia
58	0,80	0,56 - 1,14

Relación peso fresco/peso seco = 5,53

n = número de datos

\bar{x} = media geométrica

Tabla II

Contenido de zinc en placenta (seca) en 5 Zonas distintas (mmol/kg)

1- Zona exterior placenta	0,75
2- Zona exterior placenta	0,71
3- Zona interior placenta	0,78
4- Cordón cerca placenta	0,73
5- Cordón medio	0,78
$\bar{x} \pm s = 0,75 \pm 0,03$	

\bar{x} = media aritmética

s = desviación estándar

Tabla III

Contenidos de zinc en placenta (seca) (mmol/kg) según diversos autores

	\bar{x}
Baglín y col. (10)	0,18 *
Rienschneider y Martius (11)	0,17 *
Alexiou y col. (12)	0,15 *
Presente trabajo	0,15 **

* media aritmética

** media geométrica

La concentración de zinc en el grupo de placentas objeto de estudio tiene una distribución log-gaussiana, habiéndose utilizado como prueba de gaussianidad el estudio del sesgo y las curtosis. El intervalo de referencia es $1,88 \pm 0,12$ mmol/kg.

Resultados

Los resultados de zinc en las 58 muestras de placenta (seca) analizada se muestran en la tabla I, habiéndose obtenido un valor para la media geométrica de 0,80 mmol/kg con un intervalo de referencia (para un nivel de confianza

del 95%) de 0,56-1,14 mmol/kg (obtenido como antilogaritmo del valor medio más o menos 2 desviaciones estándar de la distribución de los logaritmos de los contenidos).

En la tabla II aparecen los contenidos de zinc en tejido seco obtenidos en 5 zonas distintas de una placenta y de su cordón, habiéndose obtenido un valor medio de 0,75 mmol/kg y una desviación estándar de 0,03 mmol/kg.

Discusión

Si comparamos el contenido de zinc en placenta con los observados por Schroeder (14) en otros tejidos humanos, cuyos valores oscilan entre los 1,33 mmol/kg (tejido fresco) hallado en próstata y los 0,09 mmol/kg para la piel, vemos que el contenido de zinc en la placenta es inferior al de todos los tejidos excepto la piel.

En las muestras analizadas el contenido de zinc en cordón fue similar al observado en la correspondiente placenta. Sin embargo para un grupo de 15 cordones analizados con el fin de contrastar esta afirmación se obtuvo un valor medio de 0,51 mmol/kg y una desviación estándar de 0,06 mmol/kg significativamente más bajos ($p < 0,05$) que los correspondientes valores de zinc en placenta.

En la tabla III aparecen los valores obtenidos para zinc en placenta en el presente trabajo, junto a los publicados por otros autores (10, 11, 12). La relación peso fresco a peso seco obtenida fue por término medio 5,53 y una vez aplicada a nuestros resultados nos indica un contenido de zinc en placenta (tejido fresco) de 0,15 mmol/kg por término medio. De estos valores deducimos que dicho contenido es en nuestra región comparativamente igual a los publicados por dichos autores.

El que la dieta habitual en nuestra región sea equilibrada en cuanto a su contenido de zinc (15) parece estar en concordancia con los contenidos hallados en placenta, pese a que dicha interacción no ha sido por el momento demostrada.

Agradecimientos:

Al Dr. J.M. Paz del Laboratorio Central del Hospital General de Galicia.

Bibliografía

1. Pinkerton C, Creason J, Hammer D y Colucci A. Multimedia indices of environmental trace metal exposure in humans. En Trace Elements Metabolism in Animals-2, W. Holkstra et al. eds. University Park Press, Baltimore, Md., 469 (1974)
2. Voors A, Shuman M y Gallagher P, Zinc and Cadmium autopsy levels for cardiovascular disease in geographic context. En Trace Substances in Environmental Health-VI, D.D. Hemphill, ed., University of Missouri Press, Columbia, Mo., 215 (1972).
3. Strain W, Berliner W, Lankau C, McEvoy R, Pories W, y Greenlaw R, Retention of radioisotopes by hair, bone and vascular tissue. J. Nucl. Med. 1964; 5: 664.
4. Harada Y, Clinical investigations on Minimata Disease. Congenital (or fetal) Minimata Disease. En Minimate Disease, M Kutsuna, ed., Kumamoto University Japan, 73, 1968
5. Angle C y McIntire M. Lead poisoning during pregnancy. Amer J Dis Child 1964; 108: 436.
6. Lugo G, Cassidy G y palmesano P. Acute Maternal arsenic intoxication with neonatal death. Am J Dis Child 1969; 117: 328.
7. Shaw J C L. Trace Metal Requirements of Preterm Infants Acta Paediatr Scand Suppl 296. 1982; 93-100.
8. Shaw J C L. Trace Element in the Fetus and Young Infant, I Zinc Am J Dis Child 1979; 133: 1260-1268.
9. Shaw J C L. Trace Elements in the Fetus and Young Infant II. Copper, Manganese, Selenium, and Chromium, Am J Dis Child 1980, 134: 74-81.
10. Baglin R, Brill A, y col. Utility of placental tissue as a indicator of trace element exposure to adult and fetus. Environ Res 1974; 8:64.
11. Riemschnridr R, Martius AF. Determination of trace elements in the human placenta. II Spectrophotometric determination of zinc content in human placenta. Geburtshilfe Frauenheilkd 1978; 38: 643-647.
12. Alexiou D, Grimanis AB, Criman M, y col. Concentrations of zinc, cobalt, bromine, rubidium and gold in maternal and cord blood serum. Biol Neonate 1976; 28: 191-195.
13. Paus PE. Bomb decomposition of biological materials. Atom Abs Newsl 1972; 11: 129-130.
14. Schroeder MA, Nason AP, Tipton Ih, Balassa JJ. Essential trace metals in man: zinc. J chron Dis 1967; 20: 179-210.
15. Bermejo-Barrera P, Cocho JA, Bermejo F. Relación Cd/Zn en alimentos. V Jornadas Toxicológicas Españolas. Madrid Diciembre 1983. Ed. Colegio Oficial de Farmaceuticos de Madrid 1983: 189.