

Determinación de inmunoglobulinas en calostro humano

T. M. Laura Pérez C. *, Ana María Viada F. **, José Manuel Rojas O. **

ABSTRACT

Concentrations of IgG, IgM, IgA and secretory IgA were determined in 71 samples of colostrum from normal puerperal women from the Area Occidente de Santiago, Chile.

The age of the women ranged between 16 and 35 years. Samples were collected between 11 and 76 hours post-partum.

Mancini's single radial immunodiffusion technique was used to determine the concentration of immunoglobulins.

The results show that the four types of immunoglobulins are present in variable concentrations in the colostrum, being secretory IgA predominant in all cases, in a range of 680 to 6040 mg%.²

The importance of colostrum as a source of secretory IgA for the new born is emphasized.

INTRODUCCION

Una mujer embarazada, ya antes del parto produce una secreción de su glándula mamaria conocida como calostro. Posteriormente al parto esta secreción aumenta en cantidad y varía en sus constituyentes para transformarse en leche.

Dentro de las primeras 72 horas post-parto esta secreción es escasa, amarillenta y de turbidez y viscosidad variables.

Estudios realizados en 1968 en Italia^{1, 2} y los realizados en Suecia^{3, 4} en 1977 y 1978 respectivamente, han demostrado la presencia de IgG, IgM, e IgA en calostro y leche. Sin embargo, estos autores no estudiaron la presencia de IgA e IgA secretora independientemente en calostro.

La IgA secretora es un dímero de IgA con una pieza secretora que le confiere resistencia a la acción de enzimas proteolíticas, sin modificar su capacidad inmunológica. Esta propiedad de la IgA secretora favorece su acción a nivel de mucosas como la del tracto digestivo y respiratorio. En estas mucosas protege al organismo de antígenos vivos como bacterias y virus, y de antígenos inertes.

Estudios de Tomasi y colaboradores⁵ han demostrado que el niño no produciría cantidades detectables de IgA secretora hasta el tercer mes de vida.

Si el calostro posee IgA secretora, además de otras inmunoglobulinas, podría constituir una buena fuente de estas Igs para el lactante. En este trabajo se mide la cantidad de IgG, IgM, IgA e IgA secretora

en calostro de madres del Area Occidente de Santiago.

MATERIAL Y METODO

Se estudiaron 71 madres entre 16 y 35 años de edad del Area Occidente de Santiago. Sólo se incluyeron en el estudio aquellas mujeres que no presentaron enfermedad intercurrente y cuyo parto fue de término y eutócico.

La recolección de calostro se efectuó entre las 11 y 76 horas post-parto mediante succión con sacalache Nino o masaje manual. La cantidad obtenida varió de 1 a 3 ml.

Las muestras fueron refrigeradas a 4°C y luego se centrifugaron a 19000 g durante 2 horas (centrífuga Sorvall Superspeed RC2-B) para separar el suero de la fase lipídica y restos celulares^{6, 7}. Posteriormente el suero obtenido se congeló a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

Para la determinación de las inmunoglobulinas en los diferentes calostros se utilizó el método de inmunodifusión radial de Mancini⁸ usando: agar noble (DIFCO) al 3% en buffer barbital 0.1M y pH 8.6 y antisueros monoespecíficos anti IgG, IgM, IgA e IgA secretora, producidos por el Instituto Bacteriológico de Chile. Para la determinación de la curva patrón de la concentración de inmunoglobulinas⁹ se usaron sueros standard DIP-6 para IgG, IgM, IgA y para IgA secretora DIP-11s del Instituto Bacteriológico de Chile.

Una vez cargadas las muestras en las placas de difusión se dejaron a temperatura ambiente. A las 24 horas se leyeron los halos de precipitación con ayuda de un visor Leitz-Wetzlar 0-10 mm.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos figuran en las Tablas 1-2-3-4 expresados en mg % de inmunoglobulinas. El

*Tecnólogo Médico, Laboratorio de Inmunología, Unidad Patología Funcional, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.

**Alumnos de 6.º año de Medicina, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.

promedio se obtuvo ordenando las muestras de calostro en forma creciente según horas post-parto.

Se detectaron concentraciones variables de IgG, IgM, IgA e IgA secretora en la mayor parte de las muestras analizadas. Las concentraciones de IgG (Tabla 1), fueron las más bajas, encontrándose valores menores de 10 mg % en 19 muestras de 71 casos (26.7%) que fueron consideradas iguales a 10 mg para el estudio estadístico.

Tabla N.º 1

Concentraciones promedio de IgG, en las primeras 76 horas post-parto, de 71 muestras de calostro.

Horas Post-Parto	N.º Casos	Concentración de IgG (mg %)
A) menos 24	8	29.00 ± 19.68
B) 24 a 35	33	38.66 ± 29.44
C) 36 a 47	15	29.87 ± 24.55
D) 48 a 76	15	14.33 ± 6.42

Los valores obtenidos están expresados como el promedio ± desviación standard. Estudio estadístico realizado según la prueba de Student: A versus B y B versus C, no significativo; C versus D, $P < 0.02$.

En la Tabla 2 se encuentran las concentraciones de IgM; es necesario aclarar que en 9 muestras de las 71 (12.7%) no se logró detectar IgM por este método. En el resto (87.3%) encontramos concentraciones de IgM en calostro superiores a las de la literatura.

Tabla N.º 2

Concentraciones promedio de IgM, en las primeras 76 horas post-parto, de 71 muestras de calostro

Horas Post-Parto	N.º Casos	Concentración de IgM (mg %)
A) menos 24	8	235.88 + 301.51
B) 24 a 35	33	371.94 + 281.10
C) 36 a 47	15	211.60 + 192.45
D) 48 a 76	15	60.27 + 87.59

Los valores obtenidos están expresados como el promedio ± desviación standard. Estudio estadístico realizado según la prueba de Student: A versus B y B versus C, no significativo; C versus D, $P < 0.01$.

Las concentraciones de IgA se encuentran en la Tabla 3.

Tabla N.º 3

Concentraciones promedio de IgA, en las primeras 76 horas post-parto, de 71 muestras de calostro.

Horas		
Horas Post-Parto	N.º Casos	Concentración de IgA (mg %)
A) menos 24	8	604.38 ± 135.18
B) 24 a 35	33	619.85 ± 161.32
C) 36 a 47	15	499.73 ± 181.89
D) 48 a 76	15	224.47 ± 110.04

Los valores obtenidos están expresados como el promedio ± desviación standard. Estudio estadístico realizado según la prueba de Student: A versus B y B versus C, no significativo; C versus D, $P < 0.001$.

La IgA secretora ^{11s} resultó ser la inmunoglobulina de mayor concentración en todos los calostros estudiados, como se observa en la Tabla 4.

Tabla N.º 4

Concentraciones promedio de IgA secretora, en las primeras 76 horas post-parto, de 71 muestras de calostro.

Horas Post-Parto	N.º Casos	Concentración de IgA Secretora (mg)
A) menos 24	8	2793.00 ± 763.38
B) 24 a 35	33	3463.60 ± 1363.42
C) 36 a 47	15	2233.06 ± 785.60
D) 48 a 76	15	1157.20 ± 624.10

Los valores obtenidos están expresados como el promedio ± desviación standard. Estudio estadístico realizado según la prueba de Student: A versus B y B versus C, no significativo; C versus D, $P < 0.001$.

DISCUSION

Al igual que en experiencias anteriores, en el calostro se puede detectar la presencia de las cuatro cla-

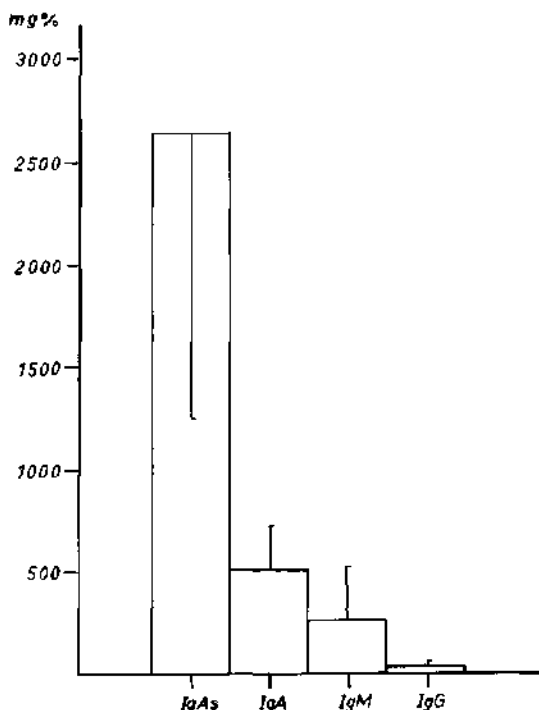
ses de inmunoglobulinas (IgG, IgM, IgA e IgA secretora).

Los valores de IgG e IgA obtenidos en este estudio son más bajos que los encontrados por McClelland y colaboradores ⁴ por el contrario en lo que se refiere a IgM, son más altos. Pudiera esto deberse al uso de diferentes reactivos en el desarrollo de las técnicas para determinarlas.

El análisis de los resultados según horas post-parto permite ver un aumento de la concentración de cada clase de inmunoglobulina entre las 24 y 35 horas post-parto. Después de este período los valores tienden a decrecer como se observa en las Tablas 1, 2, 3 y 4. Esto podría interpretarse como debido a una dilución de las concentraciones de las inmunoglobulinas, por el aumento en la cantidad de calostro secretado, más bien que a una disminución real de las concentraciones de ellas. Igual observación han hecho Bardere ¹ y Ansaldi ² en muestras seriadas de calostro y leche de una misma madre.

Nos parece de interés el claro predominio de IgA secretora en el calostro sobre las otras clases de inmunoglobulinas estudiadas. La IgA secretora se encontró en una relación de 88:1 con respecto a IgG, de 10:1 con IgM y de 5:1 con IgA como se observa en la Figura 1.

FIGURA 1
CONCENTRACIONES PROMEDIO DE IgA SECRETORA, IgA, IgM e IgG PRESENTES EN CALOSTRO (n = 71; horas post-parto = 11 ± 76).



Estos resultados demuestran que el calostro humano es una secreción rica en IgA secretora. Creemos, por este motivo, que su ingesta aporta al recién nacido una inmunoglobulina que aún no secreta en cantidad significativa, ayudándole en sus defensas naturales. Este hecho vendría a apoyar la lactancia materna, en el sentido de que con ello habría menor frecuencia de diarreas infecciosas.

RESUMEN

Se determinó la cantidad de IgG, IgM, IgA e IgA secretora ¹¹ presente en el calostro de un grupo de madres del Area Occidente de Santiago.

Los estudios se hicieron en 71 muestras de puerperas cuyas edades fluctuaron entre los 16 y 35 años, recolectadas entre las 11 y 76 horas post-parto. El método empleado fue la técnica de inmunodifusión radial de Mancini.

Se encontró que el calostro posee las cuatro clases de inmunoglobulinas en concentraciones variables, con un neto predominio de la IgA secretora en todo los casos, cuyo rango fue de 680 a 6040 mg %.

Se enfatiza la importancia del calostro como fuente de IgA secretora para el recién nacido.

REFERENCIAS

- ¹Bardere M., Cislaghi G. U. "Modificazione del tasso di immunoglobuline nel colostro e nel latte umano nei primi giorni di lattazione." *Minerva Pediatrica*, 20: 1519-25, 28 luglio, 1968 (Ita.)
- ²Ansaldi N., Criotti G., Liberatori J. "Le immunoglobuline nel latte e nel colostro di donna. II Determinazioni quantitative delle IgA, IgG, IgM nei primi due mesi di lattazione." *Minerva Pediatrica*, 20: 1969-81, 22 sep 1968 (Ita.)
- ³Reddy V., Bhaskaram C., Raghuramulu N., Jacadusan V. "Antimicrobial factors in Human milk." *Acta Pediatr. Scand.* 66: 229, 1977.
- ⁴McClelland D.B.L., McGrath J., Samson R. R. "Antimicrobial factors in human milk." *Acta Pediatr. Scand. Supplement* 271, 1978.
- ⁵Tomasi Jr. T. B., Bienenstock J. "Secretory immunoglobulins" *Adv. Immunol.* 9: 1, 1968.
- ⁶Mukkur T.K.S., Froese A. "Isolation and Characterization of IgM from bovine colostrum whey." *Immunochemistry Pergamon Press*, 8: 257-64, 1971.
- ⁷Smith E. L. "The immune proteins of bovine colostrum and plasma." *J. Biol. Chem.* 164:345-58, 1946.
- ⁸Mancini G., Carbonara A. O., Heremans J. R. "Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion." *Immunochemistry Pergamon Press*, 2: 235-54, 1965.
- ⁹Vaerman J. P., Lebaq-Verheyden A. M., Scolari L. and Heremans J. F. "Further studies in single radial immunodiffusion II. Indirect proportionality between area of precipitate and reciprocal of antibody concentration." *Immunochemistry Pergamon Press*, 6: 279-85, 1969.
- ¹⁰Tomasi T. B., Tan E. M., Prendergast R. A. "Characteristic of an immune system common to certain external secretions" *J. Exp. Med.* 121: 101, 1965.
- ¹¹Axelsson H. et al. "Isolation of immunoglobulin A (IgA) from colostrum." *Acta. Chem. Scand.* 20: 2339-48, 1966.

- ¹²Reynolds H. Y. and Johnson J. S. "Distribution of immunoglobulins in colostrum and isolation of secretory IgA and 7 s" *J. Immunol.* Vol. 104, N.º 4, April 1970.
- ¹³Tomasi T. B., Jr., M. D., Ph. D. "Secretory Immunoglobulins." *The New Engl. J. med.* 1282: N.º 10,500-506, 1972.
- ¹⁴Harson L. A., Winberg J. "Breast milk and defense against infection in the new born." *Arch. of Disease in Childhood* 47: 845, 1972.
- ¹⁵Hurtado R., Rizzardini M. "La condición inmunológica del recién nacido." *Pediatr. Hosp. R. del Río.* 15: 251-58, 1972.
- ¹⁶Sorensen R., Hurtado R., Stagno S., Melendez M. "Inmunidad humoral en niños chileno." *Pediatr. Hosp. R. del Río* 15: N.º 2, 289-91, 1972.
- ¹⁷Stolier O. A. et al. "Secretory IgA against enterotoxin in breast milk." *Lancet* 1 (7972): 1258-61, Jun 1976.
- ¹⁸Lowton J. W. et al. "Protective factors in human breast milk and colostrum." *Lancet* 1 (8005): 253, 29 Jan 1977.
- ¹⁹Hambraens L. M. D. "Propriety milk versus human breast in infant feeding." *Pediatrics Diseases* 24: 17, Feb. 1977.
- ²⁰Peitersen B., Bohn L., Andersen H. "Quantitative determination of immunoglobulins, lysosyme, and certain electrolytes in breast milk during the entire period of lactation, during a 24 hours period, and in milk from the individual mammary gland." *Acta Pediatr. Scand.* 64: 709-17, 1975.