



Perfiles ribosomales en miometrio normal y patológico

OCTAVIO MESA RIOS *
FERNANDO CARDONA ARANGO **



Se estudian los perfiles ribosomales en un miometrio normal en menopausia, y tres miometrios normales al final del embarazo. Se estudian también estos perfiles ribosomales en tres miometrios patológicos en adenomiosis, en miomatosis y en sarcomatosis.

La mayor actividad en síntesis protéica miometrial fué revelada en orden decreciente por la adenomiosis, la sarcomatosis, la miomatosis, el embarazo a término y finalmente la menopausia.



We have studied ribosomal featured in menopausal normal myometrium as well as at terminal pregnancy. Three pathological cases of adenomiosis, miomatosis and sarcomatosis have been included in our study.

The decreasing order of activity of miometrial protein synthesis was observed as follows: Adenomiosis, sarcomatosis, miomatosis prepnancy at term and finally menopause.

* Profesor titular en Bioquímica U. de A.
** Profesor Coordinador de Ginecología U.P.B.

Las células eucarióticas poseen dos tipos de ribosomas que se diferencian en sí, están libres en el citoplasma o unidos a membranas que corresponden al retículo endoplásmico. Los ribosomas unidos a membranas sintetizan proteínas que se excretan fuera de la célula y no serán estudiados acá.

Materiales

Tris, KCl y $MgCl_2$ fueron comprados a Merck. Sucrosa comprada a Sigma.

Métodos

Las muestras de miometrio humano obtenidas en cirugía fueron inmediatamente homogenizadas en un Virtis de $0.4^{\circ}C$ con 4 volúmenes de buffer compuesto de 0.20M sucrosa 0.025M KCl — 0.05M Tris 0.005M. $MgCl_2$. El homogenizado fué centrifugado a $15.000 \times g$. durante 20 minutos en una centrífuga Spinco. El sobrenadante fué centrifugado a $150.000 \times g$. durante 3 horas y el precipitado que corresponde a la fracción microsomal fué resuspendido. Los microsomas fueron subfraccionados por centrifugación en gradiente de sucrosa en tubos de celulosa en los cuales se colocaron 0.75 ml. de sucrosa al 50% seguidos de 4 ml. de gradiente de sucrosa de 20 a 5% y 0.25 ml. de fracción microsomal en la superficie. La centrifugación fué a $40.000 \times g$. durante 3 horas.

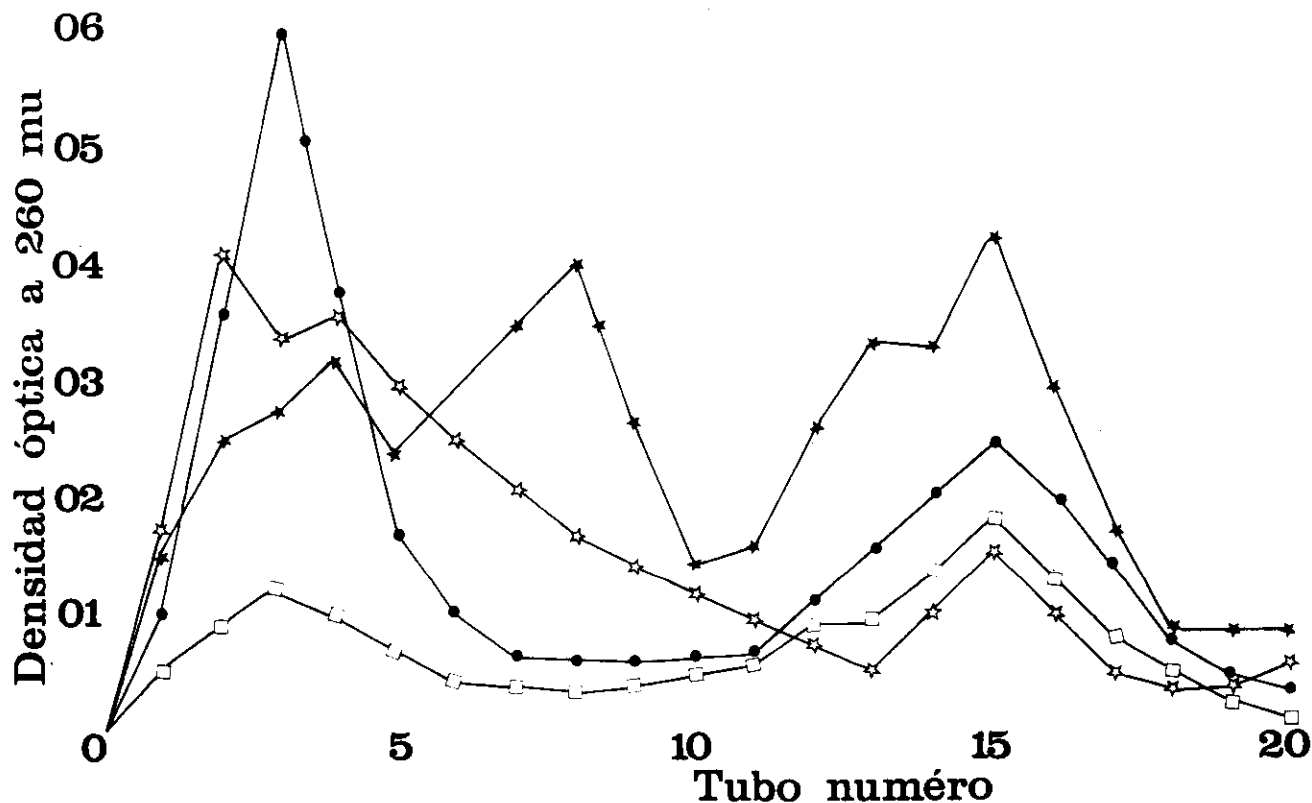
Con la unidad perforadora Buchler se perforó el fondo de los tubos y se recogieron 20 fracciones con 0.250 ml. cada una que fueron leídas en el espectrofotómetro a 260 mu.

Resultados

Las proporciones de polisomas y ribosomas libres en miometrio humano separados por centrifugación en gradiente de sucrosa, fueron analizadas por lectura en el espectrofotómetro a 260 mu. Figs. 1 y 2. Las fracciones más pesadas de polisomas se colectaron en los primeros tubos. El tubo No. 3 representa la interfase entre

la sucrosa al 50% y el gradiente lineal de 20 al 50%.

Figura 1



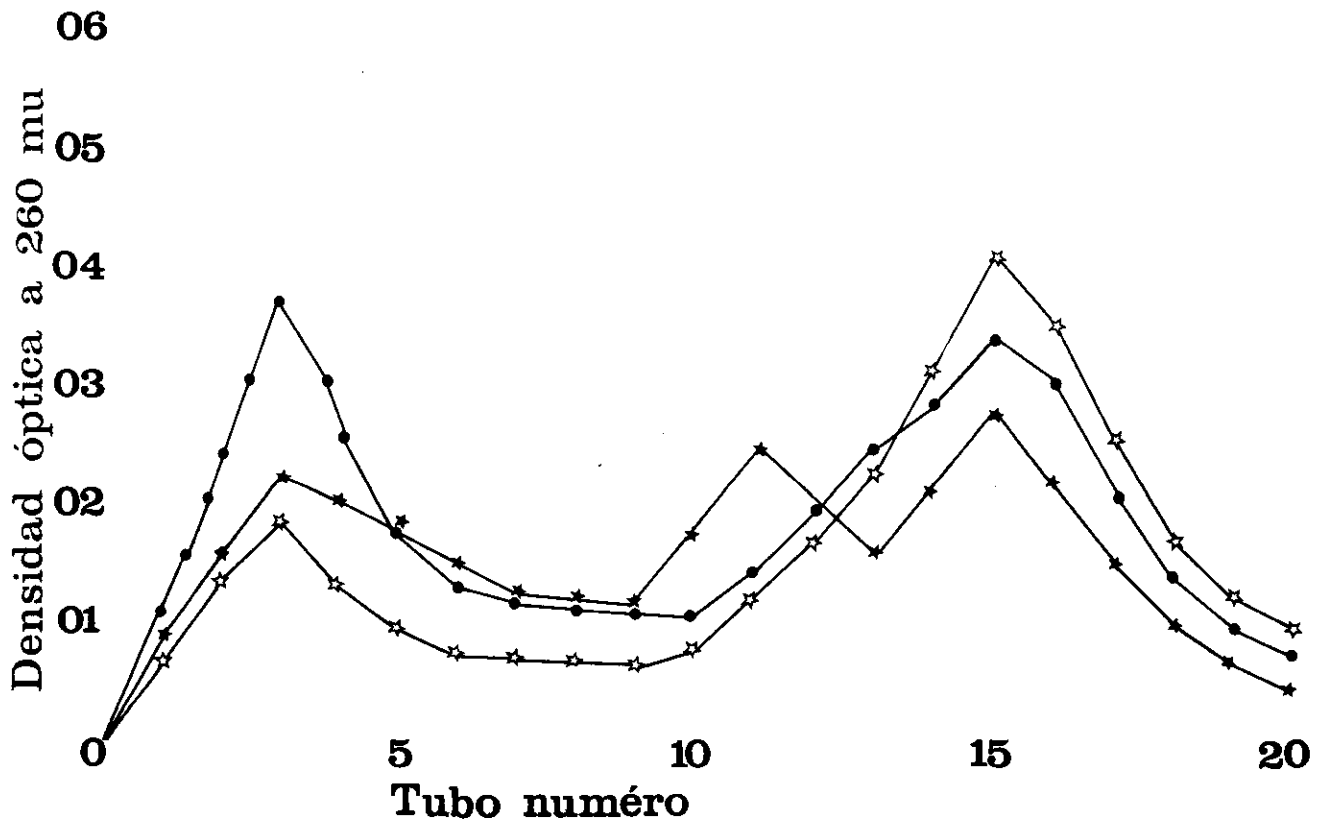
Separación por medio de centrifugación en gradiente de sucrosa de ribosomas procedentes de miometrio humano con: a) Adenomyosis (●—●); b) Miomatosis (★—★); c) Sarcomatosis (☆—☆); d) Menopausia (□—□).

Discusión

El análisis de los perfiles ribosomales permite deducir indirectamente que el miometrio con adenomyosis es el más activo en síntesis protéica siendo seguido por el útero miomatoso, siendo los menos activos los de las pacientes menopáusicas y en embarazo a término. La síntesis protéica no se determinó directamente por medio de la incorporación de aminoácidos marcados a las proteínas uterinas.

Los perfiles ribosomales son muy variados de acuerdo al estado en que se encuentre el miometrio y dependen de las condiciones nutricionales, hormonales, etc.

Figura 2



Separación por medio de centrifugación en gradiente de sucrosa de ribosomas procedentes de miometrio humano en las siguientes condiciones: a) Trabajo de Parto (●—●); b) Normal (★—★); c) Embarazo a término (☆—☆).

Los métodos de homogenización y aislamiento de los ribosomas varían según los tejidos y el animal (1). La homogenización empleada en el presente trabajo evita el daño nuclear.

La separación de los microsomas de las mitocondrias se hace generalmente con sucrosa isotónica por medio de centrifugación diferencial; sin embargo, hay informes en los que utilizan sucrosa 0.88M. para el aislamiento de microsomas de páncreas de curí (2). Como el medio de aislamiento varía con los tejidos, se encontró que la mejor concentración para el miometrio humano era de 0.20M. sucrosa.

La presencia de Mg. en el medio de aislamiento es necesaria y su concentración es crítica (3, 4, 5). Se requiere también baja temperatura en el período de aislamiento (6).

Los ribosomas fueron caracterizados en sucrosa sin deoxicolato sódico para evitar la contaminación con ribosomas del retículo endoplásmico.

REFERENCIAS

1. Dounce, A. L., cited in the nucleic acid. Edited by E. Chargaff and J. M. Davidson (Academic Press Inc, New York) 1955. 98.
2. Palade, G. E., and Slekevits, P. J. Biophys. Biochem Cytol, 2 (1956 a) 171.
3. Trakatellis, A. C., Axelrod, A. E., Monijar, M. and Campy, F. Nature, Lond, 202 (1964). 154.
4. Risebrogh, R. W., Tissieres, A. and Watson, J. D., Proc Natn. Acad. Sci., USA., 48 (1962), 430.
5. Schlessinger, D. and Gros, F., J. Molec Biol. 7 (1963), 350.
6. Wettstein, F. O., Staehelin, T. and Noll, H., Nature, Lond., 197 (1963), 430.