



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ACIDOS NUCLEICOS Y PROTEINAS EN PLACENTAS
HUMANAS.

T E S I S

Que para obtener el título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a :

XAVIER ALVAREZ HERNANDEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AS _____
BO M-30 30
ECHA _____
REC _____
S _____



A MIS PADRES:

Sr. BERNABE ALVAREZ RAMIREZ

Sra. GLORIA HERNANDEZ DE ALVAREZ

Por el apoyo brindado y su cariño.

CON CARIÑO
A MIS HERMANOS, Y
DEMÁS FAMILIARES.

AL Q.B.P. ALVAR LORIA.

Por su amistad y su atinada
dirección para la elaboración
de éste trabajo.

I N D I C E

INTRODUCCION.

MATERIAL Y METODOS.

RESULTADOS.

DISCUSION.

BIBLIOGRAFIA.

Jurado asignado originalmente:

PRESIDENTE: Prof. OSCAR AMOR DODERO

V o c a l : " . JOSEFA PIEDRAS ROSS

Secretario " . SALVADOR MARTIN SOSA

1er. Suplente " . ARTURO PEREZ ALONSO

2. Suplente " . FRANCISCA AIDA ITURBE CHIÑAS

Sitio donde se desarrolló el tema: INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION.

Nombre completo del sustentante: Xavier Alvarez Hernández.

Nombre completo del asesor del tema: Josefa Piedras Ross

Nombre completo del supervisor técnico Alvar Loria Acereto.

INTRODUCCION.

Existe poca información en la literatura - respecto al contenido de ácidos nucleicos en placentas humanas a pesar de las interesantes observaciones que ha realizado en este campo el grupo de la Universidad de Cornell en Nueva York encabezado por M. Winick. Estos investigadores han sugerido que una elevación en el valor de la relación de los contenidos placentarios de los ácidos nucleicos (ácido ribonucleico/ácido desoxiribonucleico) pudiera ser un índice de insuficiencia placentaria (14), observación de gran interés para evaluar tal situación con un método objetivo.

Por otro lado, la relación ARN/ADN medida por Winick y cols (12) en 50 placentas normales discrepa del dato obtenido por Rosado y cols (10), quienes hasta donde sabemos, es el único otro grupo que ha medido ácidos nucleicos en placentas humanas.

En este trabajo se presentan los resultados de mediciones de ácidos nucleicos y proteínas en 20 placentas pretendidamente normales.

MATERIAL Y METODOS

Se obtuvieron 20 placentas humanas normales de embarazos únicos sin complicaciones y que dieron a luz niños sin malformaciones congénitas, normales en peso corporal y edad gestacional (tabla 1). Los casos fueron tomados de parturientas asistentes al Hospital Universitario de la Ciudad de Puebla (tabla 1).

Las placentas fueron colectadas inmediatamente después de haber sido expulsadas, y colocadas en congelación. Posteriormente fueron transportadas en bolsas de plástico selladas, y a su arribo al laboratorio del Departamento de Hematología del Instituto Nacional de la Nutrición de la Ciudad de México, se procedió a remover las membranas y el cordón umbilical de la placenta, y a eliminar la mayor cantidad de sangre de la placenta haciendo lavados con agua.

Se pesaron las placentas ya lavadas sin membrana y sin cordón, y de éstas se tomó una fracción de tejido de peso conocido, en el cual se rea

lizó extracción y separación de ácidos nucleicos - (ácido desoxiribonucleico = ADN y ácido ribonucleico = ARN) y proteínas según la técnica descrita - por Rendina (9), con la cual se obtiene un sobrenadante con la mezcla de los ácidos nucleicos, y - en el precipitado las proteínas, que previamente a su medición se resuspenden en agua y se neutralizan con NaOH.

El ADN se midió por el método de Burton - (1), el ARN con el de Mejbaum (6) corregido para la interferencia que introduce el ADN presente y - las proteínas con el método de Lowry modificado - por Hartree (3).

Tabla 1. Media (\bar{x}) y desviación estándar (s) de varias características del material clínico de este estudio.

Características	Parturienta			Producto		
	\bar{x}	s	Oscilación	\bar{x}	s	Oscilación
Edad (años/semanas)	22.7	7.1	17-14	38.7	1.89	35.4-40.8
Peso* (kg)	57.1	7.0	49-70	3.1	0.36	2.6-3.5
Talla (cm)	150.2	7.2	138-162	50.1	1.78	48-53
% Peso/Talla**	----	---	-----	97.8	10.58	82-111
Paridad	2.7	1.6	1-5	----	-----	-----
Peso placenta*** (g)	377.1	70.9	251-527	----	-----	-----

* Peso en la parturienta al final del embarazo.

** Calculado (5) versus percentila 50 de valores de peso para edad gestacional en niños mexicanos (8).

*** Peso de placentas lavadas y libres de membranas y cordón.

RESULTADOS.

Se presentan los valores de media y desviación estándar de ARN, ADN y proteínas en las 20 - placentas tanto en concentración (mg/g de tejido - húmedo y mg/g de tejido seco en la tabla 2) como - en contenido total (g/placenta en la tabla 3). En la tabla 3 se incluyen datos sobre las relaciones - ARN/ADN, proteínas/ADN y proteínas/ARN vistas en - el material de estudio.

La desviación estándar no resultó ser un - buen índice del grado de dispersión de valores ya - que hubo algunos valores discrepantes tanto en tér - minos de mg/g de tejido húmedo (tabla 2) como en - el contenido total y las relaciones entre los pará - metros en estudio (tabla 3). Nótese por otra par - te que para la concentración en términos de mg/g - de tejido seco (tabla 2) hay menor escape de valo - res extremos.

En vista de esta ligera asimetría en las - distribuciones de valores, se prefirió eliminar -

algunos datos de la oscilación (ver tablas 2 y 3)- y considerar a esta oscilación corregida como los límites "normales" en nuestro laboratorio para concentración, contenido total y relaciones de ARN, - ADN y proteínas en placentas humanas.

En la tabla 4 se presenta el resultado de - los análisis de correlación de peso placentario - versus los diversos parámetros medidos: solamente los contenidos totales de ARN, ADN y proteínas - guardan una correlación positiva alta, por lo que - en la misma tabla se presentan las ecuaciones de - las rectas de regresión de estos 3 parámetros ver - sus el peso placentario.

Tabla 2. Media (\bar{x}), desviación estándar (s) y oscilación de las concentraciones - (mg/g) de ácidos nucleicos y proteínas vistas en 20 placentas "normales". Las concentraciones se dan en mg/g de tejido húmedo y en mg/g de tejido seco.

	Tipo de tejido	\bar{x}	s	Valores extremos eliminados en la oscilación	Oscilación "normal"
ARN	Húmedo	2.33	0.29	3.16 (caso 10)	1.91-2.70
	Seco	11.5	2.19	17.7 (caso 10)	8.0-14.1
ADN	Húmedo	5.84	1.10	3.68 y 7.85 (casos 7 y 19)	4.18-7.13
	Seco	29.2	7.67	ninguno	15.6-39.9
Proteínas	Húmedo	87.6	10.9	68.8 y 114.0 (casos 13 y 7)	74.8-106.0
	Seco	429.1	38.1	ninguno	357-484

Tabla 3. Media (\bar{x}), desviación estándar (s) y oscilación del contenido total (g/placenta de ARN, ADN y proteínas) y las relaciones entre ácidos-nucleicos y proteínas en 20 placentas "normales".

	\bar{x}	s	Valores extremos eliminados en la oscilación	Oscilación "normal"
ARN	0.881	0.225	1.48 (caso 10)	0.55-1.33
ADN	2.187	0.558	1.20 (caso 7)	1.53-3.44
Proteínas	32.93	6.65	ninguno	22.7-45.0
ARN/ADN	0.412	0.088	0.65 (caso 7)	0.31-0.50
Prot/ADN	15.79	4.93	30.9 (caso 7)	10.2-22.3
Prot/ARN	38.15	6.33	24.2 (caso 10)	29.9-47.5

Tabla 4. Análisis de correlaciones de peso placentario versus los parámetros medidos. En la parte inferior de la tabla se dan las ecuaciones de los datos que muestran correlación alta.

Parámetro analizado	Peso placentario versus	r
Concentración (mg/g)	ARN	+ 0.12
	ADN	+ 0.19
	Proteínas	+ 0.17
Relaciones	ARN/ADN	+ 0.13
	Prot/ADN	- 0.004
	Prot/ARN	- 0.13
Contenido total (g/placenta)	ARN	+ 0.86
	ADN	+ 0.69
	Proteínas	+ 0.68

Rectas de regresión de los contenidos totales (y_1 a y_3) versus peso placentario (x):

Ecuación $y = mx + b$		s_m	s_b
ARN	$y_1 = 0.0027 x + 0.02098$	9.584×10^{-5}	3.627×10^{-2}
ADN	$y_2 = 0.0049 x + 0.3757$	3.793×10^{-4}	1.464×10^{-1}
Proteínas	$y_3 = 0.0794 x + 2.895$	3.270×10^{-3}	1.267

DISCUSION.

Los autores que han medido los mismos parámetros a los estudiados en el presente trabajo - son Rosado y cols (10) y Winick y cols (12).

Los datos de Rosado y cols no son comparables a los del presente trabajo ya que dichos autores presentan sus datos en mg/ml, o sea en unidades peso/volumen y no en términos de peso/peso como en el presente estudio, y por otra parte, no fue posible transformar los datos de Rosado y cols a unidades peso/peso ya que hay ambigüedades en las referencias metodológicas de dichos autores (2,4,7). Posiblemente de todas maneras no sean comparables las series de Rosado y cols (10) y las del presente estudio en vista de la gran discrepancia que hay en la distribución de los pesos placentarios en ambas series: en las 16 placentas de niños a término vistas por Rosado y cols, los pesos fueron de 232 ± 15 g (media \pm desviación estándar) contra 377 ± 70.9 g en las 20 placentas de este estudio.

Los trabajos de Winick y cols (12,13,14) - no proporcionan datos numéricos sino que los presentan en forma gráfica. Ante este obstáculo, la comparación de los datos de Winick y cols en 50 - placentas normales (12) y los del presente estudio se ha tenido que hacer gráficamente: en la figura-1 se presenta dicha comparación, en la cual puede-verse que existen concordancias y discordancias en tre las dos series:

Concordancias.

1) No existe relación entre el peso placentario y las concentraciones de ARN, ADN y proteínas.

2) El contenido total de ARN y de proteínas guardan una relación lineal con el peso placentario.

Discrepancias.

1) La gráfica de contenido total de ADN ver sus peso placentario de Winick y cols sufre un -

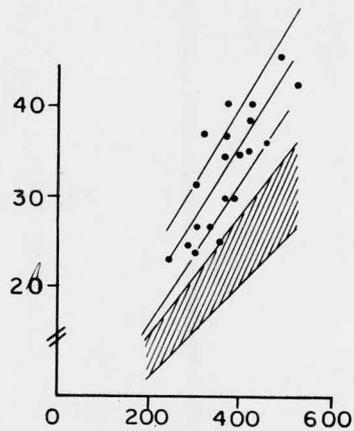
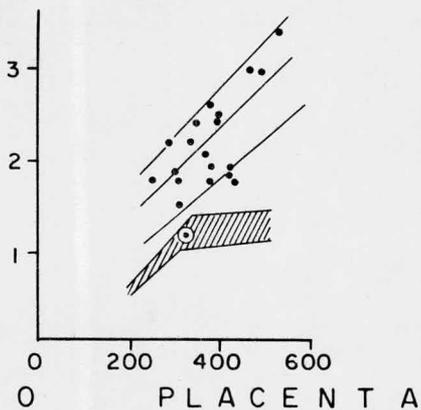
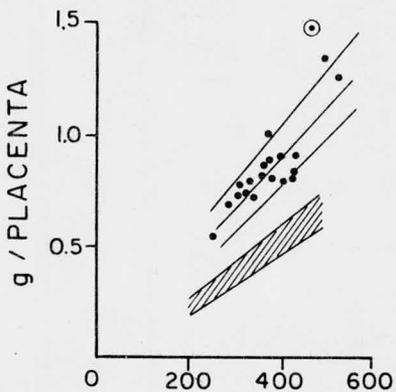
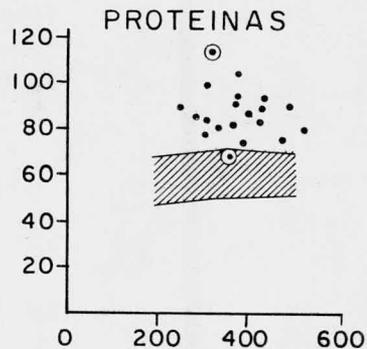
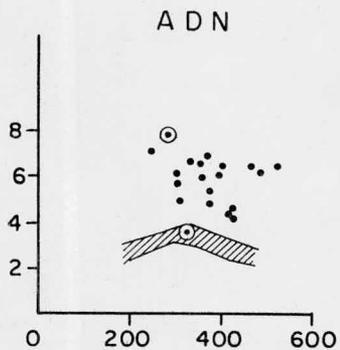
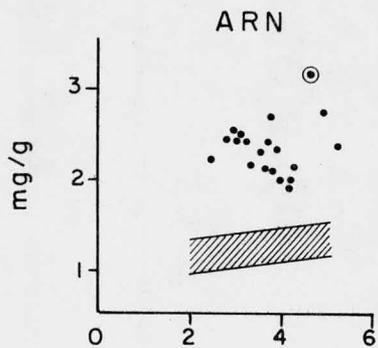
aplanamiento al llegar a un peso placentario de - 350 g en tanto que en los casos aquí presentados, - el aumento de contenido total de ADN va más allá - de los 350 g y mantiene una relación lineal con el peso placentario hasta alcanzar los pesos máximos - de las placentas de esta serie (527 g).

2) Los valores del presente estudio son - francamente más altos que los presentados por Winick y cols. Esta elevación aparentemente no puede ser explicada porque exista una gran diferencia entre los materiales de estudio de las dos series: los pesos placentarios de Winick y cols (200-500 g) son similares a los del presente estudio. Por - otra parte, el que los valores de proteína entre - ambas series sean discordantes en el mismo sentido al de los ácidos nucleicos, sugiere que esta diferencia puede ser debida a que el método de extracción y separación empleado en el presente estudio - (9) sea superior al utilizado por Winick y cols - (11).

Winick y cols han prestado especial aten- -

ción a las relaciones de proteínas/ADN y sobre todo ARN/ADN, para establecer posibles insuficiencias placentarias (14), e informan que el valor normal para la relación ARN/ADN es de 0.5 (12) pero sin presentar más datos numéricos: al obtener valores numéricos a partir de las gráficas de contenido total de ARN y de ADN versus peso placentario de dichos autores, se observó que la relación ARN/ADN es uniforme (≈ 0.36) en las placentas con pesos entre 200 y 350 g, pero al aplanarse la curva de ADN sin que se aplane la de ARN, resulta que a unos 425 g de peso placentario, la relación ARN/ADN sube a ≈ 0.42 y al llegar a 500 g de peso, la relación alcanza el valor de ≈ 0.5 . Tal cosa no ocurrió en la presente serie en vista de que, como ya se mencionó, el contenido total de ADN no sufrió aplanamiento al sobrepasar la placenta los 350 g de peso. Una comparación de los valores de estas relaciones en las 3 series accesibles se presenta en la tabla 5: los valores de estas relaciones en la presente serie son claramente inferiores a las de Rosado y cols, pero bastante menos discrepantes con las de Winick y cols. Parecería ser -

Figura 1.- Comparación gráfica de los datos de Winick y cols (12) y los del presente estudio. Las zonas sombreadas representan los valores que Winick y cols dan como bandas de "normalidad", y los puntos los datos del presente estudio (se identifican con \odot los valores extremos eliminados en tablas 2 y 3).- En la parte superior se dan las gráficas de peso placentario (eje de la x) versus concentraciones (eje de las y)- y en la parte inferior se presentan las gráficas de peso placentario versus contenido total.



que, a pesar de las discrepancias vistas entre las concentraciones y contenidos totales de ARN, ADN y proteínas de la presente serie y de los de Winick- y cols (figura 1), hay una mayor concordancia entre ambas series para las relaciones ARN/ADN y proteínas/ADN, y que los datos de Rosado y cols discrepan de ambas series (tabla 5).

La escasez de datos en la literatura mundial sobre los parámetros medidos en placentas humanas en el presente estudio, hace difícil tomar la decisión de cuáles son los valores "normales". Por ahora cada laboratorio tendrá que manejar sus propios valores "normales".

Tabla 5. Comparación de las relaciones ARN/ADN, proteínas/ADN y proteínas/ARN-
obtenidas en éste y otros estudios. Se dan valores de media \pm desviación
estándar.

	Rosado y cols (10)* n = 16	Winick y cols (12)** n = 50	Presente estudio *** n = 19
ARN/ADN	0.70 \pm 0.06	0.36 a 0.50	0.40 \pm 0.07
Prot/ADN	64 \pm 50	19	15.0 \pm 3.50
Prot/ARN	91.4	47	38.9 \pm 5.58

* Prot/ARN calculada a partir de las otras relaciones (Prot/ADN y ARN/ADN)

** Exclusivamente valores promedio aproximados y obtenidos de gráficas. Ver en texto porqué varía el dato de ARN/ADN.

*** Se eliminaron los valores extremos de los casos 7 y 10 (ver tabla 3).

BIBLIOGRAFIA.

1. Burton, K.: A study of the conditions and mechanisms of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.* 62: 315-319, 1956.
2. Giles, K. & Myers, H.: An improved diphenylamine method for the estimation of deoxyribonucleic acid. *Nature* 206: 93, 1965.
3. Hartree, E.F.: Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.* 48: 422-427, 1972.
4. Layne, E.: Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. III. Biuret method. In: Colowick, S.P. and Kaplan, N.O.: *Methods in Enzymology*. Academic Press, New York, 1957, pp 448.
5. Loría, A., Vaz-Pinto, A., Arroyo, P., Ramírez--

- Mateos, C. & Sánchez-Medal, L.: Nutritional anemia. VI. Fetal hepatic storage of metabolites - in the second half of pregnancy. *J. Pediatrics* 91: 569-573, 1977.
6. Mejbaum, H.Z.: Method of determination of pentose. In: Campbell, P.N.: *Techniques in Protein-Biosynthesis*. Academic Press, London, 1967, - Vol. 1, pp 301-302.
7. Metcuff, J., Yoshida, T., Morales, M., Rosado, - A., Urrusti, J., Sosa, A. & Yoshida, P.: Biomolecular studies of fetal malnutrition in maternal leukocytes. *Pediatrics* 47: 180-186, 1971.
8. Jurado García, E., Abarca Arroyo, A., Osorio - Roldañ, C., Campos Ordaz, R., Saavedra Mujica, - A., Alvarez de los Cobos, J. & Parra Jiménez, - J.: El crecimiento intrauterino. I. Evaluación del peso y la longitud corporal fetal en la ciudad de México. Análisis estadístico de 16807 - nacimientos consecutivos de producto único, vivo. *Bol.Med.Hosp.Infantil Méx*, 27:163-191, 1970.

9. Rendina, G.: Técnicas Bioquímicas Aplicadas. - Ed. Interamericana, Barcelona, 1971, pp 151.
10. Rosado, A., Bernal, A., Sosa, A., Morales, M., Urrusti, J., Yoshida, P., Frenks, O., Velasco, L., Yoshida, T. & Metcoff, J.: Human fetal growth retardation. III. Protein, DNA, RNA, adenine nucleotides and activities of the enzymes - pyruvic and adenylate kinase in placenta. Pediatrics 50: 568-577, 1972.
11. Schmidt, G. & Thannhauser, S.J.: A method for the determination of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoproteins in animal tissues. J. Biol. Chem. 161: 83-89, 1945.
12. Winick, M., Cosia, A. & Noble, A.: Cellular growth in human placenta. I. Normal placental-growth. Pediatrics 39: 248-251, 1967.
13. Winick, M. & Noble, A.: Cellular growth in human placenta. II. Diabetes mellitus. J. Pediatrics 71: 216-219, 1967.

14. Winick, M.: Cellular growth of human placenta. III. Intrauterine growth failure. J. Pediatrics 71: 390-395, 1967.