

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA RNasa L EN CÉLULAS DE CÉRVIX UTERINO NORMALES E INFECTADAS POR EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO (C/S Tx).

¹Benítez-Rodríguez M.T., ¹Lara-Martínez R., ²Guido-Bayardo R., ³Cervantes-Chávez F., ¹Jiménez-García L.F. ¹Laboratorio de Nanobiología, Facultad de Ciencias, UNAM. ²Inmunología Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE. ³Gineco-Obstetricia Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE. México. E-mail: mtbenitez00@hotmail.com; lfjg@hp.fciencias.unam.mx

La Ribonucleasa L (RNasa L), destruye virus, inhibe su replicación y/o induce la apoptosis, en respuesta a las infecciones virales. Su cuantificación permite determinar si las células infectadas por el virus del papiloma humano (VPH) responden ante su presencia y ante la presencia de RNasa A exógena, cuando se usa ésta como tratamiento antiviral. Se analizaron biopsias de cérvix uterino (CU) de pacientes que asisten al Servicio de Gineco-Obstetricia del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” del ISSSTE, por la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión. Se incluyeron en Lowicryl (KM4); para la inmunolocalización ultraestructural se utilizó como anticuerpo primario la Anti-RNasa L e IgG anti-ratón acoplado a partículas de oro coloidal de 12 nm como anticuerpo secundario; se contrastaron con uranilo-plomo. Se observó que la RNasa L está presente en todas las células, tanto normales como infectadas, con y sin tratamiento, sean basales, parabasales ó escamosas, aunque el contenido es diferente. Las células normales muestran un promedio de 0.3 marcas/ μ^2 ; las infectadas 1 marca/ μ^2 , y las infectadas de pacientes tratadas con RNasa A presentan 3 marcas/ μ^2 ($p < .01$). Los resultados permiten proponer que se activa el sistema IFN \rightarrow RNasa L por dos estímulos, el VPH y la RNasa A exógena.

ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LA RIBONUCLEASA L EN CÉLULAS INFECTADAS POR EL VIRUS DEL PAPILOMA HUMANO.

¹Benítez-Rodríguez M.T., ¹Lara-Martínez R., ²Guido-Bayardo R., ³Cervantes-Chávez F., ¹Jiménez-García L.F. ¹Laboratorio de Nanobiología, Facultad de Ciencias, UNAM. ²Inmunología Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE. ³Gineco-Obstetricia Centro Médico Nacional “20 de Noviembre”, ISSSTE. E-mail: mtbenitez00@hotmail.com; lfjg@hp.fciencias.unam.mx

La Ribonucleasa L (RNasa L) es una enzima que forma parte de un sistema natural de respuesta celular ante las invasiones virales. Sus funciones son destruir al virus, inhibir la replicación viral y/o inducir la apoptosis de acuerdo al tipo de invasor, y a la magnitud de la infección. Es el eslabón final de la cadena de respuesta activada por la entrada del virus y seguida de la producción de Interferón (IFN α/β). De acuerdo a la literatura, existe una secuencia lineal en la respuesta celular activada por el enlace de los virus a sus respectivos receptores; sin embargo, en nuestra experiencia, hemos observado que la RNasa L se incrementa cuando se administra Ribonucleasa A (RNasa A) exógena, por lo que se ha generado la duda respecto a la posibilidad de que el sistema contenido de RNasa L en células de cérvix uterino de personas normales, infectadas por el virus del papiloma humano (VPH) e infectadas por el VPH y tratadas con RNasa A. Las biopsias fueron donadas voluntariamente por pacientes que asisten al Servicio de Gineco-Obstetricia del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” del ISSSTE para el tratamiento de infecciones virales. Se procesaron por la técnica de inmunolocalización: se incluyeron en Lowicryl (KM4), los cortes se sometieron al efecto de la Anti-RNasa L (Monoclonal Anti-RNase-L mouse Ig, SIGMA) como anticuerpo primario e IgG de asno, anti-ratón acoplado a partículas de oro coloidal de 12 nm (12 nm coloidal Gold-Affini pure donkey anti-mouse IgG H+L, Jackson I.R.L.I.) como anticuerpo secundario; finalmente se contrastaron con uranilo-plomo y se observaron al Microscopio Electrónico de Trasmisión (MET). Los resultados muestran que la RNasa L se encuentra en todas las células observadas, ya sean basales, parabasales y escamosas, sin embargo el contenido es diferente; se debe considerar que el análisis es de zonas de células y no se puede hacer un conteo por la célula completa, por lo que los resultados se reportan únicamente por área del núcleo. Las células normales muestran un promedio de --- marcas por μ^2 ; las células infectadas muestran un promedio de ----/ μ^2 , y las células infectadas y tratadas con RNasa A muestran un promedio de ---/ μ^2 . De acuerdo a los resultados, las células infectadas activan el sistema de respuesta celular IFN \rightarrow RNasa L puesto que hay un incremento de la enzima con respecto a las células normales y el incremento es aún mayor en las células de la biopsia con RNasa A, lo que haría suponer que la RNasa L se incrementa por dos probables estímulos, el inducido por el VPH y por otro lado, la presencia del la RNasa A. Diversos artículos han ponderado el efecto de las Ribonucleasas como potentes antivirales, lo que llevó a proponer a la RNasa A como una terapia contra el VPH; sin embargo, aún cuando se sabe la forma en que en condiciones naturales el organismo responde ante los retos virales, no está comprendido hasta la fecha, el mecanismo por el que las RNasas exógenas ejercen su efecto. Estos estudios permiten proponer que se activa el mecanismo natural a través de la RNasa L, aunque sin determinar en que parte de la cadena de todo el sistema.