

Estudio Histoquímico de las Ubiquinonas en frotis vaginales humanos

F. Hernández, J. R. Iglesias y A. Domínguez

RESUMEN

Se introduce una nueva técnica en el estudio de la citología exfoliativa vaginal humana. Es un método histoquímico para detectar ubiquinonas. La máxima intensidad es presentada por las células basales de vagina, las células endocervicales, las células endometriales y los leucocitos eosinófilos.

En este trabajo hemos realizado un estudio histoquímico de la reacción Hidroquinona Tetrazolio Reductasa con MTT para detectar ubiquinonas en las células de frotis vaginales humanos.

Las ubiquinonas fueron descubiertas por Morton y col.¹¹ en Liverpool cuando investigaban las vitaminas liposolubles y simultaneamente por Crane y col.³ en Wisconsin investigando la cadena respiratoria en mitocondrias de corazón de buey; éstos la denominaron coenzima Q. Actualmente se usa indistintamente el término ubiquinona o el de coenzima Q. Químicamente las ubiquinonas son dimetoxitoluquinonas con una cadena poliisoprenoide. Pueden designarse por el número de isoprenos o bien por el nú-

mero de átomos de carbono de la cadena lateral.

La primera ubiquinona aislada por Lowe y col.⁹ resultó ser la 2, 3-dimetoxi-5-alkil-6-metil-1,4-benzoquinona. Il a m a d a también Q₁₀ (Pm. 850).

Por esta constitución química, parece deducirse que el núcleo aromático es probablemente el centro reactivo y la cadena isoprenoide le confiere una marcada solubilidad lipídica que puede anclarla en la fase lipídica de los elementos estructurales de las células de los tejidos.

Respecto a la función de la ubiquinona, Green y col.⁵ la sitúan en la cadena respiratoria como mecanismo redox trans-

portador de electrones entre las flavoproteínas y los citocromos. Hatefi⁶ considera como probable que el coenzima Q intervenga en la fosforilización oxidativa.

La distribución de las ubiquinonas es muy amplia. Se han encontrado por métodos bioquímicos en bacterias¹ y en plantas⁷. En los animales inferiores se han investigado ubiquinonas en celentéreos, moluscos, etc., siendo en general las que dominan las Q₈, Q₉ y Q₁₀. Entre los vertebrados se encuentra en mayor proporción la Q₁₀, pero en la rata también puede destacarse la Q₉,².

Los métodos bioquímicos utilizados para localizar las ubiquinonas han sido los de extracción y cromatografía¹⁰.

El método histoquímico para ubiquinonas fue descrito por Tranzer y Pearse¹² y posteriormente adaptado por Hernández y Martínez de Morentin⁸ al estudio de frotis citológicos.

Dicho método consiste en utilizar la hidroquinona como donador de electrones en conjunción con la sal de tetrazolio 3-(4,5 dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT).

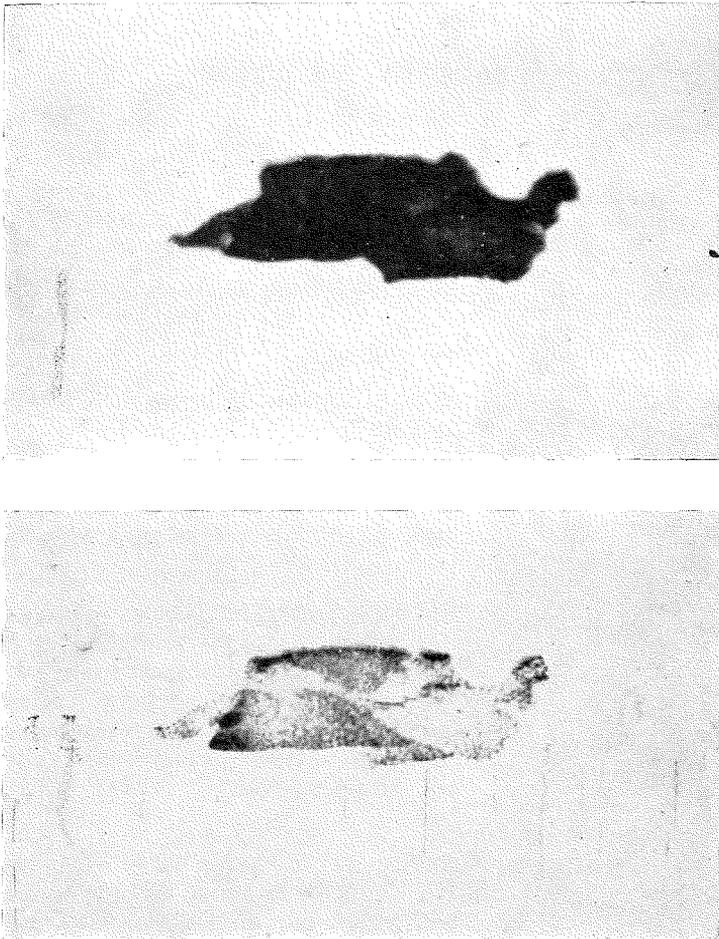
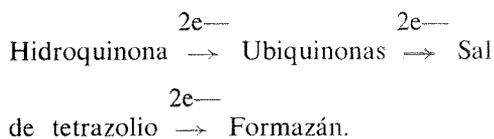


Fig. 1. Placa de células basales. Arriba reacción de ubiquinonas; abajo la misma placa celular teñida con hematoxilina-eosina. X 40.

En esquema, la reacción se produce de la siguiente forma:



Es pues el precipitado negro de forma-

zán lo que muestra al microscopio, la presencia de ubiquinonas.

MATERIAL Y MÉTODO

Hemos aprovechado los distintos casos de una consulta ginecológica para uti-

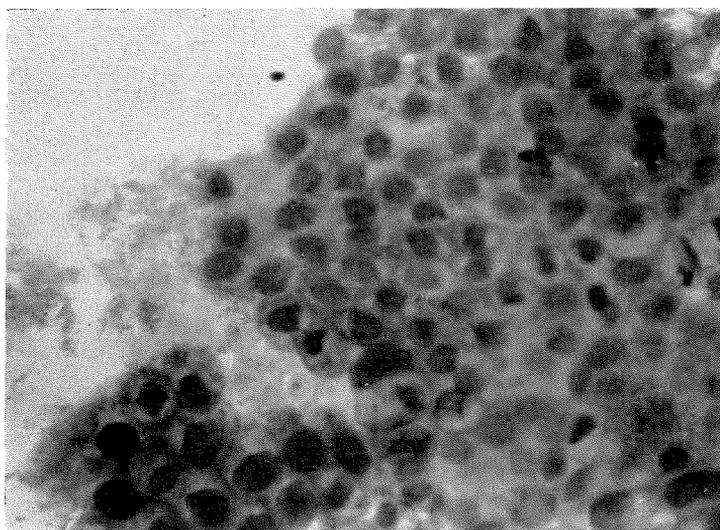
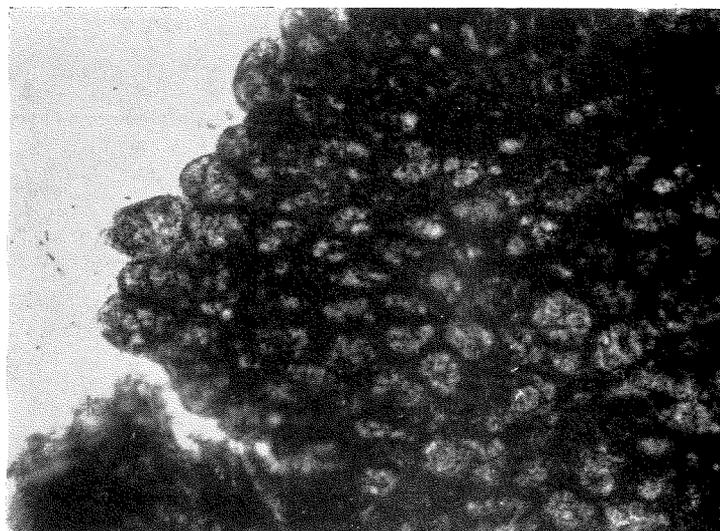


Fig. 2. Placa de células endocervicales. Arriba reacción de ubiquinonas observándose cilios en la cisura de la zona inferior izquierda; abajo la misma placa celular teñida con hematoxilina-eosina. X 400.

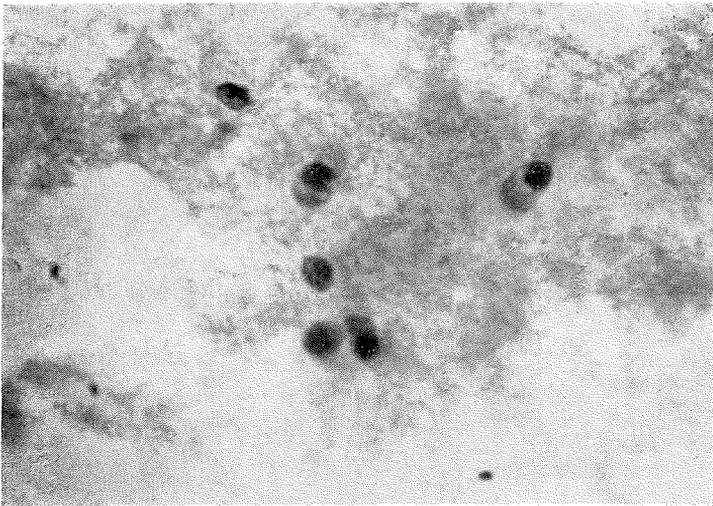
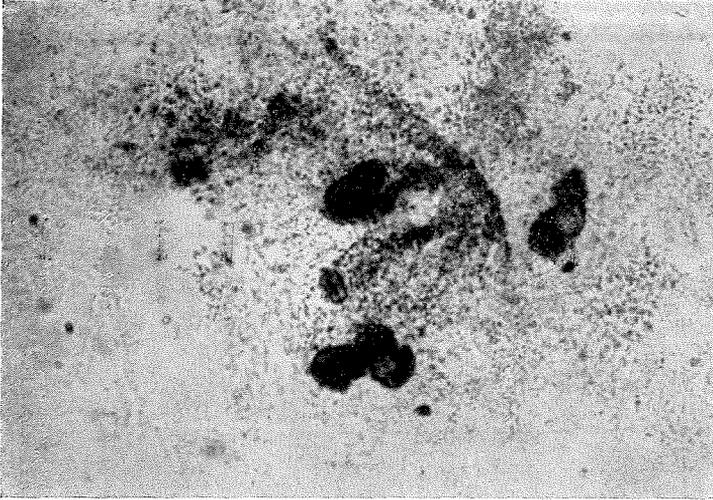


Fig. 3. Varias células endocervicales arriba con la reacción de ubiquinonas; abajo las mismas células teñidas con hematoxilina-eosina, X 400.

lizar los frotis vaginales en el estudio histoquímico de ubiquinonas. En total, se han estudiado 70 frotis.

El frotis se sumerge en formol neutro al 10 %, donde permanece durante unas 24 horas, pues la ubiquinona apenas es afectada por el formol.

Después seguimos el método de Tranzer y Pearse^{12, 13}:

1. Incubación durante 45 minutos a 37° C. en el siguiente medio:

0.25 ml. de 3-(4,5 dimethylthiazolyl-2)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT);

1 mg./ml. en agua destilada.

0.05 ml. de Cloruro de cobalto 0,5 M.

0.50 ml. de Buffer tris 0,2 M, pH 7,4.

2 mg. de catalasa.

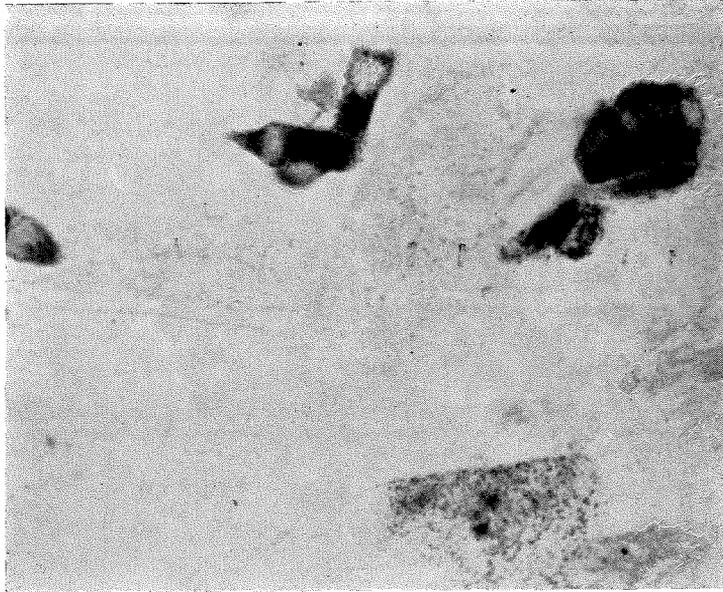


Fig. 4. Reacción de ubiquinonas. Células endocervicales ciliadas en el ángulo superior derecho, mostrando una línea negativa a nivel de los corpúsculos basales. X 400.

0.10 ml. de hidroquinona, 40 mg./ml. en tris Buffer, pH 7,4.

Esta solución debe ser completamente fresca y filtrada antes de usar.

2. Fijación durante 15 minutos a temperatura ambiente en formol neutro al 10 %.

3. Lavado durante unos segundos primero en agua corriente y después en agua destilada.

4. Montaje del cubreobjetos con glicerina-gelatina.

Se observa el frotis en el microscopio valorando de 1 a 4, el grado de positividad; es decir, la intensidad de precipitados de formazán.

Después se desprende el cubreobjetos con agua templada que lava también el formazán. Se someten las células ya lavadas a una tinción de hematoxilina-eosina y se observan nuevamente al microscopio para tratar de identificarlas.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

En los frotis examinados, las células basales muestran una intensidad de ubiquinonas de grado 4. (Fig. 1).

Las células parabasales, de 2 a 3. La concentración es mayor alrededor del núcleo. (Fig. 6).

Las células intermedias, de 1 a 2. También aquí la concentración es mayor alrededor del núcleo. (Fig. 6).

Las células superficiales, de 0 a 1; tienen pequeños precipitados. (Fig. 5).

Las células endocervicales, 4. (Figs. 2, 3 y 4). Parece ser que es negativa la zona de los corpúsculos basales de los cilios. (Fig. 4).

Las células endometriales, 4. (Fig. 5).

Parece que durante la fase de secreción, disminuye la intensidad en todas las células epiteliales de útero y vagina.

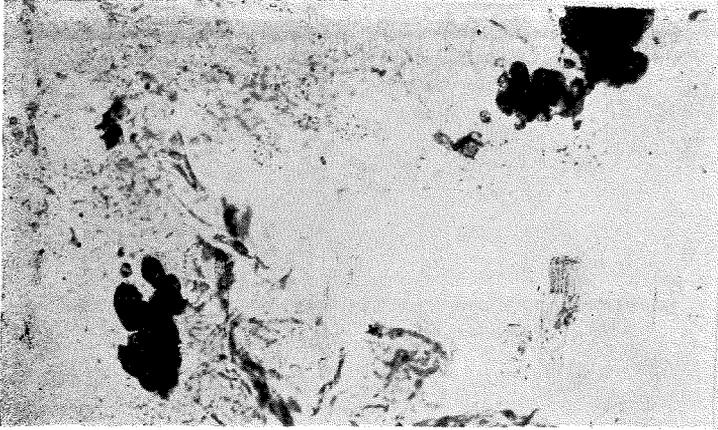


Fig. 5. Células superficiales y endometriales con reacción histoquímica de ubiquinonas. X 125.

En los histiocitos el precipitado de formazán es intenso, pero con tendencia a constituir grumos aislados. (Fig. 7).

Los neutrófilos, intensidad de 1 a 2. (Fig. 8).

Los eosinófilos, intensidad 4. (Fig. 8).

Los bacilos de Döderlein tienen un punteado muy positivo que es único para cada bacilo, o doble, sin mantener una posición uniforme. (Fig. 9).

Respecto a las células tumorales, solamente hemos visto un frotis sospechoso de malignidad (Papanicolau tipo IV) y las células atípicas tenían una intensidad de 2 a 3.

Esta técnica, por lo tanto, puede ser un complemento de las utilizadas en el estudio de frotis vaginales. Sirve especialmente para detectar con rapidez la presencia de células basales, de células endocervicales, de células endometriales y de eosinófilos.

El significado de esta positividad guarda relación con el metabolismo oxidativo de dichas células. Su riqueza en ubiquinonas hace suponer que en ellas hay una activa transferencia de electrones entre las moléculas, y, por lo tanto son intensos los procesos de síntesis y degradación. Parece ello justificado, teniendo en cuenta la actividad regenerativa de las células

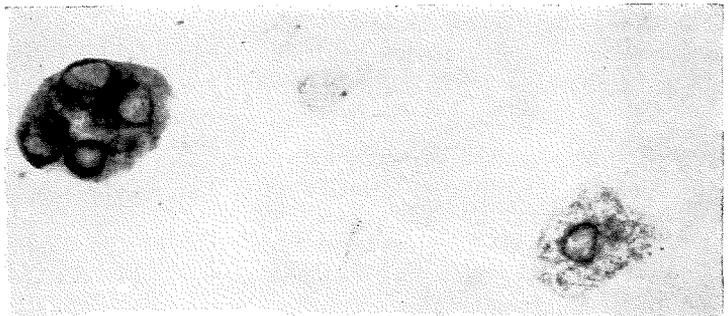


Fig. 6. Reacción histoquímica de ubiquinonas. En el ángulo superior izquierdo, cuatro células parabasales; en el inferior derecho, una célula intermedia. X 400.

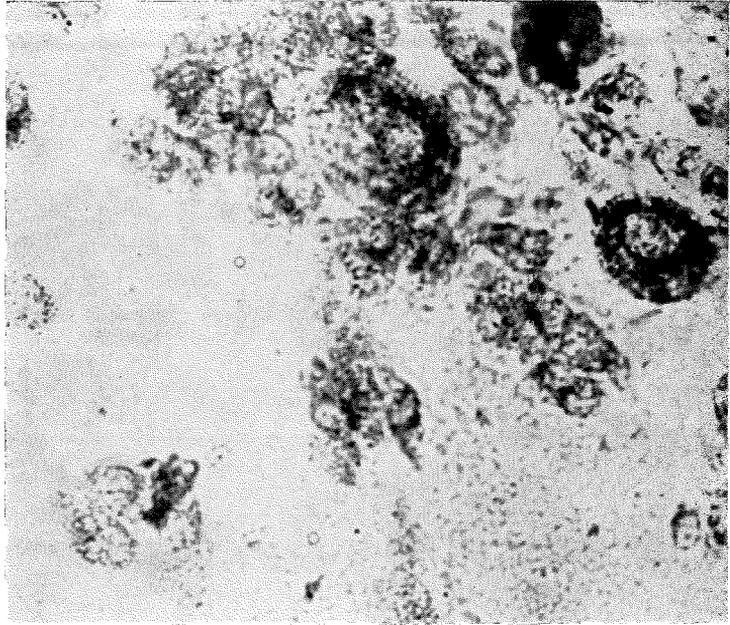


Fig. 7. Reacción histoquímica de ubiquinonas. Arriba, tres o cuatro histiocitos con polinucleares; abajo, un histiocito con polinucleares. X 400.

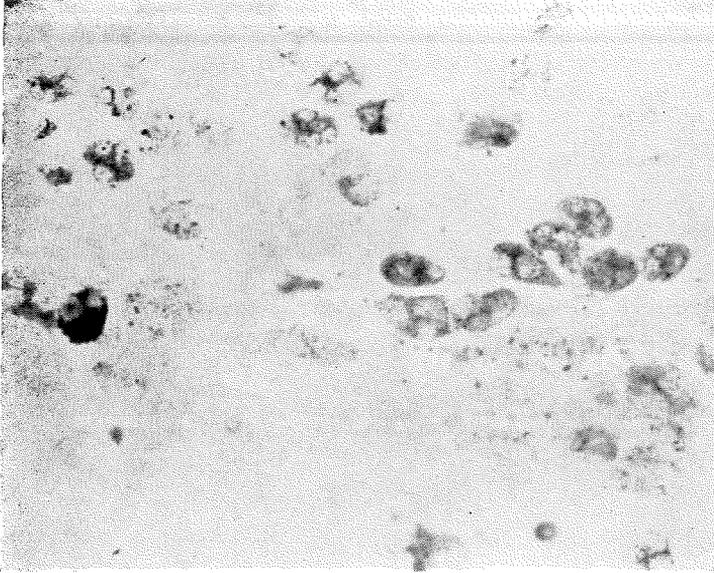


Fig. 8. Reacción histoquímica de ubiquinonas. Polinucleares neutrófilos con un eosinófilo a la izquierda. X 400.

basales y la motilidad ciliar y secreción de las células endocervicales y endometriales.

Se observa la máxima intensidad de ubi-

quinonas durante la fase de proliferación, tal vez porque durante ella los estrógenos provocan mayor actividad y desarrollo de energía en útero y vagina.

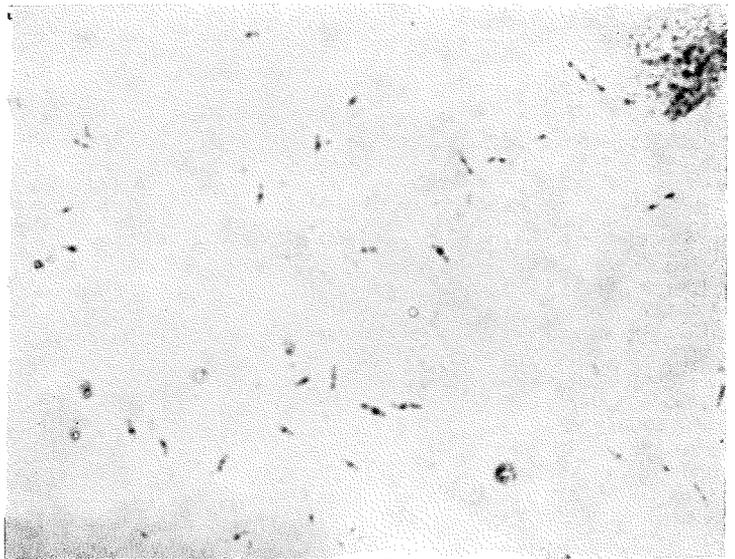


Fig. 9. Reacción histoquímica de ubiquinonas. Bacilos de Döderlein. X 1000.

SUMMARY

Histochemical Study of Ubiquinones in Human Vaginal Smears

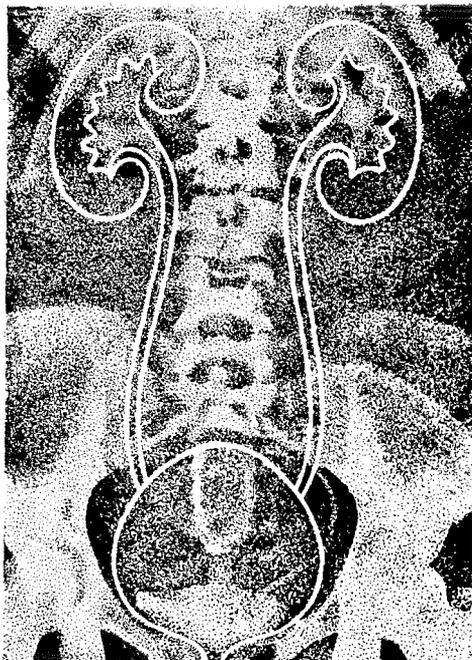
A new technique is introduced in the study of the exfoliative cytology of human vagina. It is an histochemical method for detecting Ubiquinones. The maximum intensity is pre-

sented by the basal cells of the vagina, the endocervical cells, the endometrial cells and the eosinophiles leucocytes.

BIBLIOGRAFÍA

1. BISHOP, D. H. L. y H. K. KING. *Biochem. J.*, 85: 550, 1962.
2. CRANE, F. L. En "Ciba Foundation Symposium on Quinones in Electron Transport", editado por G. E. W. Wolstenholme y C. M. O'Connor. Churchill Ltd. London, 1961.
3. CRANE, F. L., Y. HATEFI, R. L. LESTER y C. WIDMER. *Biochem. Biophys. Acta*, 25: 220, 1957.
4. GLOWER, J. En "Biochemistry of Quinones", editado por R. A. Morton. Pág. 207. Academic Press. London, 1965.
5. GREEN, D. E. y G. P. BRIERLEY. En "Biochemistry of Quinones", editado por R. A. Morton. Pág. 405. Academic Press. London, 1965.
6. HATEFI, Y. *Biochem. Biophys. Acta*, 31: 490, 1959.
7. HENNINGER, M. D. y F. L. CRANE. *Biochemistry*, 2: 1168, 1963.
8. HERNÁNDEZ, F. y J. MARTÍNEZ DE MORENTIN. *S'ain Technology*, 42: 241, 1967.
9. LOWE, J. S., R. A. MORTON, N. F. CUNNINGHAM y J. VERNON. *Biochem. J.*, 67: 215, 1957.
10. MORTON, R. A. En "Biochemistry of Quinones", editado por R. A. Morton. Pág. 23. Academic Press. London, 1965.
11. MORTON, R. A. En "Ciba Foundation Symposium on Quinones in Electron Transport", editado por G. E. W. Wolstenholme y C. M. O'Connor. Pág. 5. Churchill Ltd. London, 1961.
12. TRANZER, J. P. y A. G. E. PEARSE. *Nature*, 199: 1063, 1963.

**en las
infecciones
agudas
y crónicas
de las vías
urinarias.**



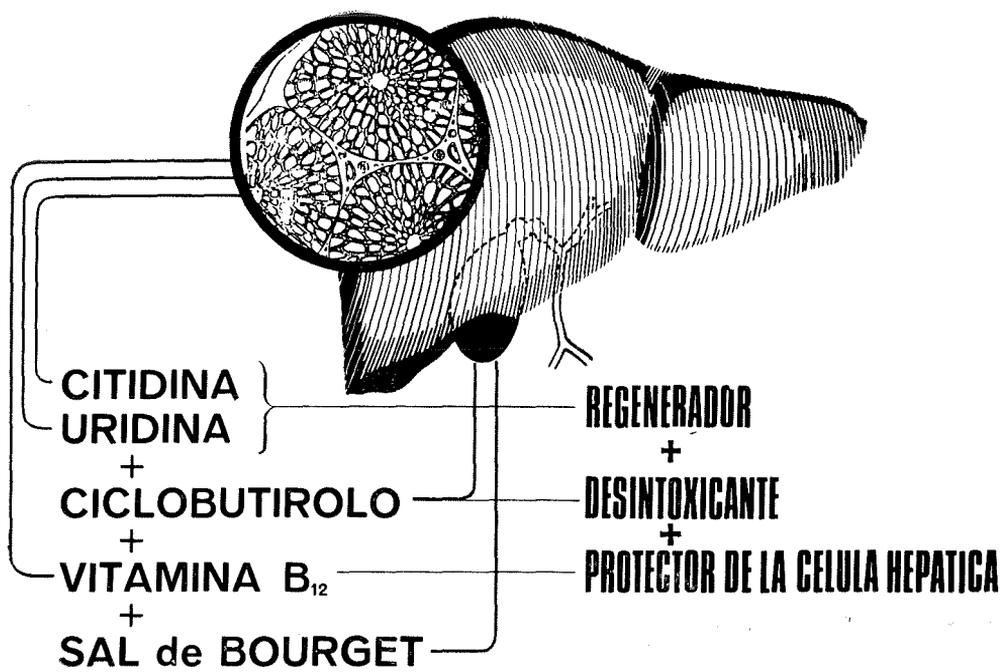
UROVALIDIN BRACCO
(Terizidona)

nuevo antibiótico
selectivo
de amplio
espectro



Muestras y bibliografía:

Laboratorios Viñas, S. A.
Torrente Vidalet, 29 - Barcelona -12

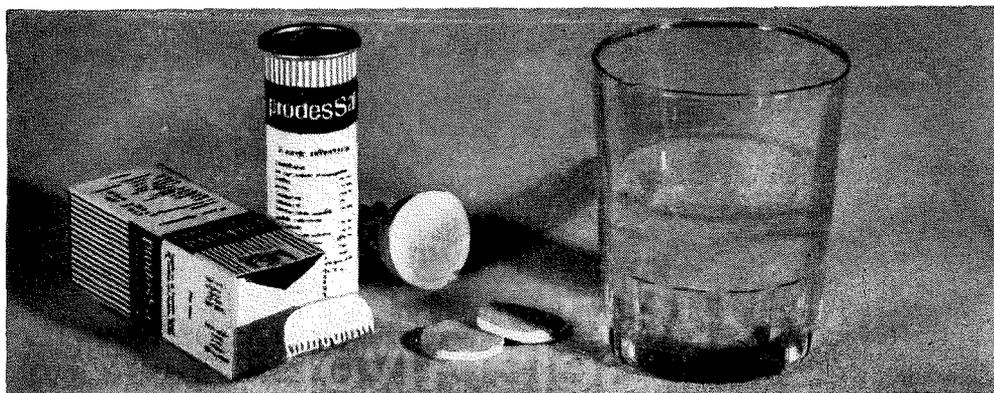


prodes Sal

dosificación "exacta"



1 comprimido en ayunas



prodes Sal

comprimidos efervescentes

REGENERADOR • DESINTOXICANTE Y PROTECTOR DE LA CELULA HEPATICA



LABORATORIOS PRODES, S.A. Sepúlveda. 85 • Tel. 224 38 03* Barcelona (15)