

2010 Octubre, 2(1): 1-

## **ASOCIACION DE LA DETENCION DEL CICLO CELULAR EN LA FASE G2-M CON LA APOPTOSIS EN LA ENFERMEDAD EXPERIMENTAL DEL INJERTO CONTRA HUESPED**

Autores: Ponzinibbio C., Bergna C., Laguens G., Di Girolamo V., Coronato S., Cabeza Meckert P. y Laguens R.  
Cátedra de Patología B. Fundación Favaloro  
e-mail de contacto: [carlopon@gmail.com](mailto:carlopon@gmail.com)

### **Introducción**

En el transplante de órganos sólidos la infiltración de linfocitos es responsable del rechazo agudo. Por el contrario, la enfermedad del rechazo del injerto contra el huésped (EICH), complicación del transplante alogénico de médula ósea (MO) y responsable de la mayor parte de los fracasos de este método terapéutico, se caracteriza por la destrucción de los epitelios de la piel, tubo digestivo y árbol biliar por apoptosis, con ausencia de infiltración linfocítica. Los mecanismos involucrados en la inducción de este fenómeno son desconocidos. Dado que, a diferencia de los órganos sólidos, esos tejidos se renuevan continuamente, decidimos investigar la posibilidad de que en la EICH existan alteraciones del ciclo celular que lleven a la muerte celular por apoptosis, independientes de los mecanismos de daño inmune dependiente de células.

### **Objetivos**

Pesquisar en un modelo experimental de EICH, si en las células de los epitelios de la piel y tubo digestivo existen alteraciones en la expresión de proteínas involucradas en el ciclo celular que se asocien con la presencia de apoptosis.

### **Materiales y métodos**

Se indujo EICH mediante la inyección endovenosa en ratones adultos de la generación F1 de machos C57 x hembras BALB/c endocriados, de  $3 \times 10^7$  células nucleadas extraídas de la médula ósea (MO) de ratones BALB/c, previa administración 4 días antes de 400 mg/kg de ciclofosfamida (CF) por vía intraperitoneal. Ratones controles F1 recibieron la misma dosis de CF sin inyección de MO. Los animales se mantuvieron en condiciones de esterilidad y se sacrificaron 7 y 14 días después de recibir MO. Se resecaron segmentos de piel de oreja, dorso y abdomen que se fijaron en formaldehído tamponado y se incluyeron en parafina. Sobre cortes de 3  $\mu$ m de espesor se realizó el estudio histológico y se investigó la expresión de antígeno Ki67, una proteína nuclear expresada en todo el ciclo celular y ausente en la fase G0 y de ciclina B1, característica de la fase G2-M, por métodos inmunoenzimáticos. La pesquisa de apoptosis se realizó en cortes coloreados con hematoxilina y eosina.

### **Resultados**

En los animales que recibieron MO alogénica se observó apoptosis (condensación y fragmentación nuclear) de los enterocitos de las criptas intestinales y de las células de la capa basal de la epidermis, que estaban ausentes en los animales controles. La pesquisa de antígeno Ki67 mostró en los enterocitos del fondo de las criptas un incremento de núcleos positivos del  $108,3\% \pm 16,9$  a los 7 días y de  $92,4\% \pm 11,7$  a los 14 días post trasplante (PT) con respecto a los controles no trasplantados ( $p < 0.01$ ). Un resultado similar se observó en los núcleos de las células basales de la epidermis, con incrementos del  $66,7\% \pm 9,2$  y  $88\% \pm 14,6$  respectivamente.

La pesquisa de ciclina B1 a los 7 días PT reveló en los enterocitos una relación ciclina B1 nuclear/citoplásmica de 1/14 y en los controles de 8/1 y de 1/8 y de 9/1 respectivamente a los 14 días. En las células basales de la epidermis la relación fue de 1/6 y de 1/11 a los 7 y 14 días PT y de 6/1 y 5/1 respectivamente en los controles.

### **Conclusiones**

La translocación de ciclina B1 del citoplasma al núcleo permite la progresión del ciclo celular hacia la fase M. La presencia de apoptosis y el aumento de núcleos Ki67 positivos, con acumulación de células con ciclina B1 en el citoplasma, indica que en la EICH las células progenitoras residentes en los epitelios entérico y epidérmico están detenidas en la fase G-2 con inhibición de progresión hacia la fase M, un fenómeno conectado con la catástrofe mitótica y que conduce a la muerte por apoptosis. Esta observación sugiere que en la EICH el ciclo celular puede ser blanco de una respuesta inmune independiente de rechazo celular.