

Muerte y proliferación celular en el epitelio bronquiolar de ratón durante el proceso normal de envejecimiento

Lidia Valeria Jaramillo Castillo^a, Diana Daniela Castañeda Martínez^a, Yareth Gopar Cuevas^a, Ricardo Cerda Flores^b, Carlos de la Garza González^c, Laura Rodríguez Flores^a, Marta Ortega Martínez^a, Gilberto Jaramillo Rangel^{a*}

^a Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ave. Madero S/N, C.P. 64460 Monterrey, Nuevo León, México.

^b Facultad de Enfermería, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ave. Gonzalitos 1500 Norte, C.P. 64460 Monterrey, Nuevo León, México.

^c Departamento de Embriología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ave. Madero S/N, C.P. 64460 Monterrey, Nuevo León, México.

* gjaramillorangel@yahoo.com.mx

Palabras clave: recambio celular, epitelio bronquiolar, ratón, envejecimiento.

Introducción

En el proceso de envejecimiento se presentan cambios en el pulmón, los cuales provocan una mayor susceptibilidad a factores que pueden causar enfermedades respiratorias¹. La mayoría de los estudios en esta área se han enfocado a la porción alveolar respiratoria. Sin embargo, muchas enfermedades y anomalías del pulmón comienzan en las vías aéreas pequeñas²⁻⁴. En el epitelio de las vías aéreas pequeñas, al igual que en el epitelio de otras partes del organismo, se lleva a cabo un recambio en el que se substituyen las células que mueren por otras nuevas⁵. Nuestra hipótesis es que el recambio celular en el epitelio de las vías aéreas pequeñas se altera durante el proceso normal de envejecimiento. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el grado de muerte y proliferación celular en el epitelio bronquiolar durante el proceso normal de envejecimiento.

Parte experimental

Se obtuvieron pulmones de ratones de la cepa CD1 de 2, 6, 12, 18 y 24 meses de edad (3 individuos de cada edad), se fijaron en formalina neutra al 10%, se incluyeron en parafina y se obtuvieron secciones de 5 micrómetros. Los cortes en las cadenas del ADN de las células apoptóticas en el epitelio bronquiolar fueron identificados utilizando el sistema comercial ApopTag Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon International, Temecula, CA). La proliferación celular se analizó detectando inmunohistoquímicamente el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA, por sus siglas en inglés) utilizando un anticuerpo primario monoclonal no conjugado (Abcam, Cambridge, MA) y detectando el mismo con un sistema comercial de revelado (BD Pharmingen, San Diego, CA). Las secciones fueron contrateñidas con verde metilo al 0.5% y se observaron con un microscopio de campo claro para contar el número de células positivas para cada marcador en tres secciones de cada ratón. El número de células apoptóticas y de células en proliferación se normalizó dividiendo dicho número entre el perímetro de la membrana basal. Se capturaron los datos en el programa SPSS versión 21 (IBM, Chicago, IL) y se analizaron estadísticamente con un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de Diferencia Mínima Significativa. Se consideró significativo un valor de *p* igual o menor a 0.05.

Resultados y discusión

Los resultados de la prueba de ANOVA mostraron que hubo una diferencia significativa en el número de células apoptóticas entre las edades analizadas ($F=3.7$, $p=0.006$). El número de células apoptóticas fue significativamente mayor a los 24 meses de edad (0.008 ± 0.001) que en las otras edades analizadas (0.003 ± 0.001 , 0.003 ± 0.002 , 0.002 ± 0.001 y 0.003 ± 0.001 para los 2, 6, 12 y 18 meses de edad, respectivamente; valores de *p* de 0.001, 0.009, 0.007, y 0.005, respectivamente). Por otra parte, se encontró una diferencia significativa en el número de células en proliferación entre las edades analizadas (ANOVA: $F=32.0$, $p=0.000$). El número de células en proliferación a los 2 meses de edad (0.068 ± 0.003) fue significativamente mayor que en todas las otras edades analizadas ($p<0.011$). Asimismo, los ratones a los 6 meses de edad tuvieron un número significativamente mayor de células en proliferación (0.054 ± 0.005) que las otras edades analizadas (0.025 ± 0.005 , 0.030 ± 0.003 y 0.021 ± 0.003 para los 12, 18 y 24 meses de edad, respectivamente; en todos los casos $p=0.000$).

Conclusiones

Nuestros hallazgos indican que en los bronquiolos el proceso de envejecimiento normal se asocia con un aumento en el número de células que mueren, al mismo tiempo que disminuye el número de células que proliferan. Este fenómeno podría estar relacionado con el mayor grado de vulnerabilidad que presenta el pulmón envejecido con respecto a factores externos e internos que lo conducen a enfermedad.

Referencias

1. Miller, M.R. Semin. Respir. Crit. Care Med. **2010**, 31, 521-527.
2. Sera, T.; Fujioka, H.; Yokota, H.; Makinouchi, A.; Himeno, R.; Schroter, R.C.; Tanishita, K. J. Biomech. **2003**, 36, 1587-1594.
3. Niewoehner, D.E.; Kleinerman, J.; Rice, D.B. N. Engl. J. Med. **1974**, 291, 755-758.
4. Mellick, P.W.; Dungworth, D.L.; Schwartz, L.W.; Tyler, W.S. Lab. Invest. **1977**, 36, 82-90.
5. Reynolds, S.D.; Malkinson, A.M. Int. J. Biochem. Cell Biol. **2010**, 42, 1-4.