



## VII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica y I Congreso de Preparaciones Virtuales por Internet

Del 1 al 31 de octubre de 2005



### La PARP-1 como marcador inmunohistoquímico precoz de la muerte celular en el infarto agudo del riñón.

María del Carmen Benítez<sup>\*</sup>, David Martín-Oliva<sup>\*\*</sup>, F. Javier Oliver<sup>\*\*</sup>, Mercedes Gómez<sup>\*\*\*</sup>, Raimundo García del Moral<sup>\*\*\*</sup>, Francisco O`Valle<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup> Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras" CUBA

<sup>\*\*</sup> Instituto López Neira de Biomedicina y Parasitología ESPAÑA

<sup>\*\*\*</sup> IBIMER, Departamento de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina. Granada. ESPAÑA

#### Resumen

##### Resumen:

La Poli (ADP-Ribosa) Polimerasa (PARP-1), es una enzima nuclear de 116 kDa, que cataliza la transferencia de unidades de ADP-ribosa empleando como sustrato NAD<sup>+</sup>, sobre residuos carboxílicos de glutámico y aspártico de proteínas nucleares. Una de las funciones biológicas de la PARP-1 es la reparación del ADN y el mantenimiento de la integridad del genoma. Esta proteína nuclear funciona como sensor activándose en respuesta al daño del DNA de causa isquémica, señalizando la ruptura de su cadena.

Cuando la intensidad del daño al que esta expuesto el ADN es severa, el estrés oxidativo induce una sobreactivación de PARP-1, que tras consumir el NAD<sup>+</sup> y deplecionar de ATP las células, produce disfunción celular y muerte por necrosis.

Esta forma de muerte celular se postula como mecanismo patogénico en numerosos procesos entre ellos fenómenos isquémicos de riñón, corazón y otros órganos como encéfalo.

Lo anteriormente expuesto, motivó la realización de este trabajo, con el propósito de determinar la expresión nuclear de PARP-1 en biopsias renales.

#### Introducción

La Poli (ADP-Ribosa) Polimerasa (PARP-1), es una enzima nuclear de 116 kDa, que cataliza la transferencia de unidades de ADP-ribosa empleando como sustrato NAD<sup>+</sup>, sobre residuos carboxílicos de glutámico y aspártico de proteínas nucleares. Una de las funciones biológicas de la PARP-1 es la reparación del ADN y el mantenimiento de la integridad del genoma. Esta proteína nuclear funciona como sensor activándose en respuesta al daño del DNA de causa isquémica, señalizando la ruptura de su cadena.

Cuando la intensidad del daño al que esta expuesto el ADN es severa, el estrés oxidativo induce una sobreactivación de PARP-1, que tras consumir el NAD<sup>+</sup> y deplecionar de ATP las células, produce disfunción celular y muerte por necrosis.

Esta forma de muerte celular se postula como mecanismo patogénico en numerosos procesos entre ellos fenómenos isquémicos de riñón, corazón y otros órganos como encéfalo.

Lo anteriormente expuesto, motivó la realización de este trabajo, con el propósito de determinar la expresión nuclear de PARP-1 en biopsias renales.

#### Material y Métodos

##### Material y Método:

Se estudiaron las biopsias procedentes de piezas quirúrgicas de pacientes con diagnóstico histopatológico previo de infarto isquémico agudo del riñón.

Utilizando el método manual de Tissue Micro Arrays (Histopathology Ltd.), se tomaron cilindros de 2 mm de diámetro de diferentes zonas de los bloques de parafina (FOTO 1): área del infarto isquémico con destrucción de las estructuras celulares AI (FOTO 2)), área limítrofe de túbulos con necrosis celular y otros con aspecto morfológico aparentemente conservado (AL) (FOTO 3), y áreas más alejadas del infarto, sin alteraciones histológicas. (AN). (FOTO 4)

La detección de PARP-1 en los multibloques, se realizó por el método de inmunohistoquímica basado en técnica de polímero conjugado con peroxidasa, aplicando el anticuerpo monoclonal frente a PARP-1 (clon

PARP01, Master Diagnóstica).

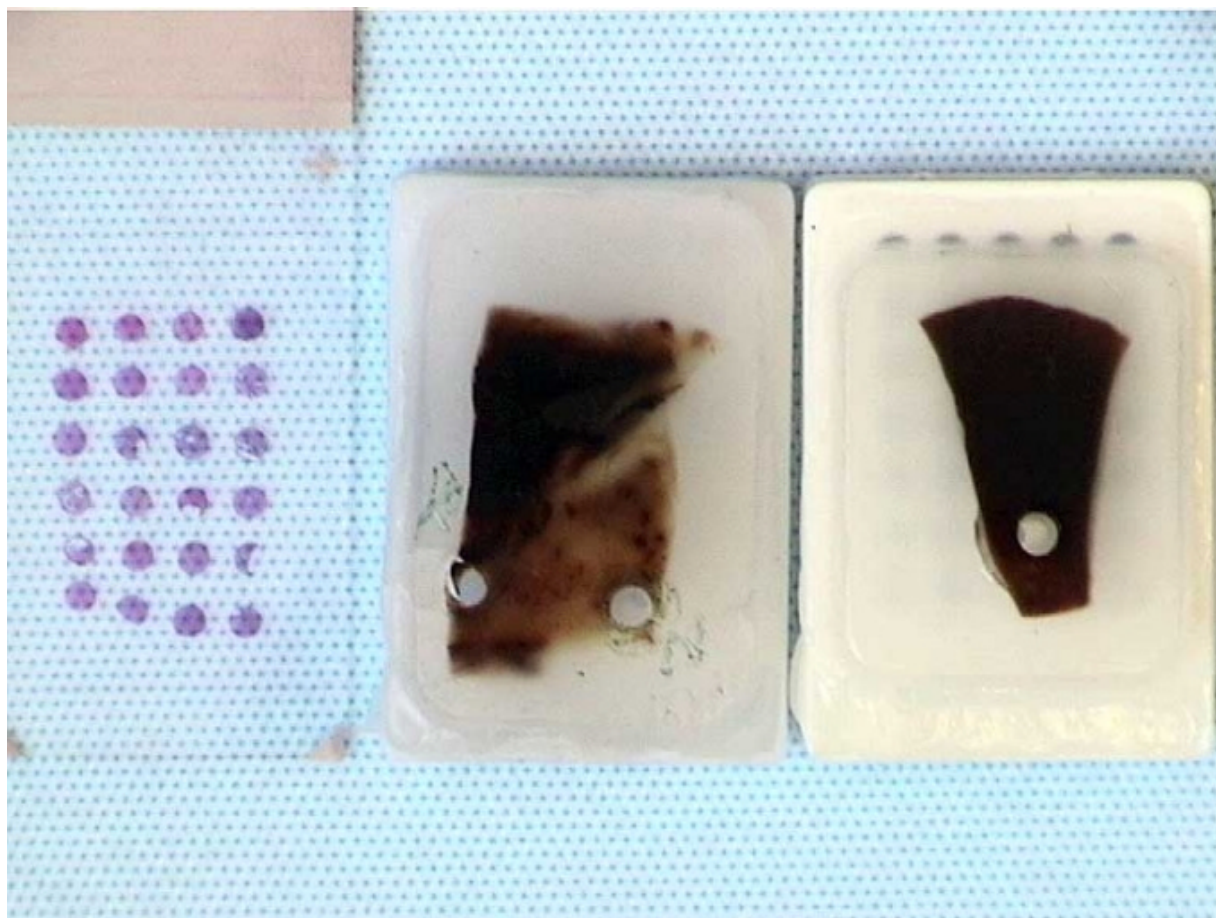


FOTO 1: Método manual de Tissue Micro Arrays (Histopathology Ltd.), cilindros de 2 mm de diámetro de diferentes zonas de los bloques de parafina.

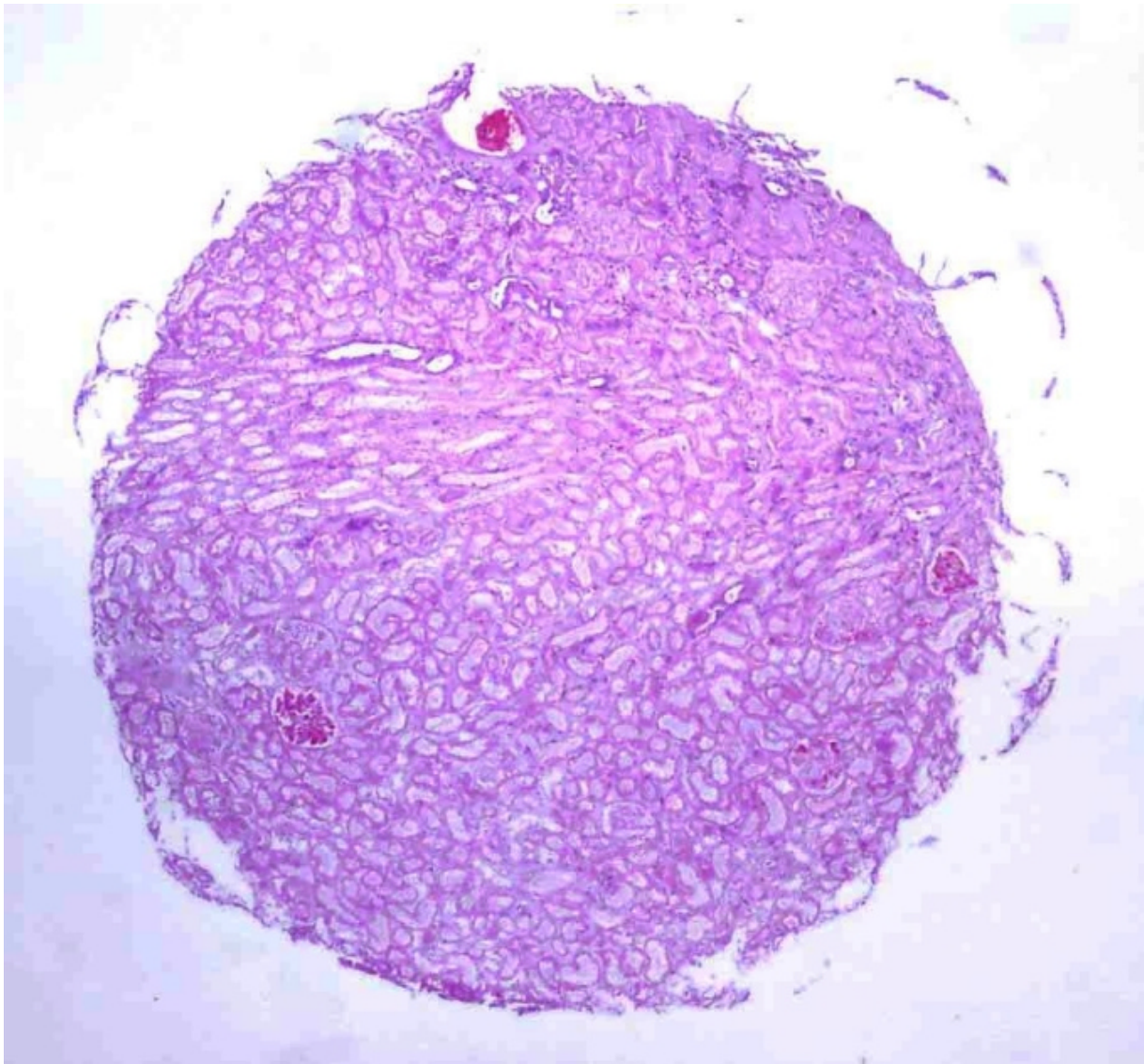


FOTO 2: Area del infarto isquémico con destrucción de las estructuras celulares. (AI)



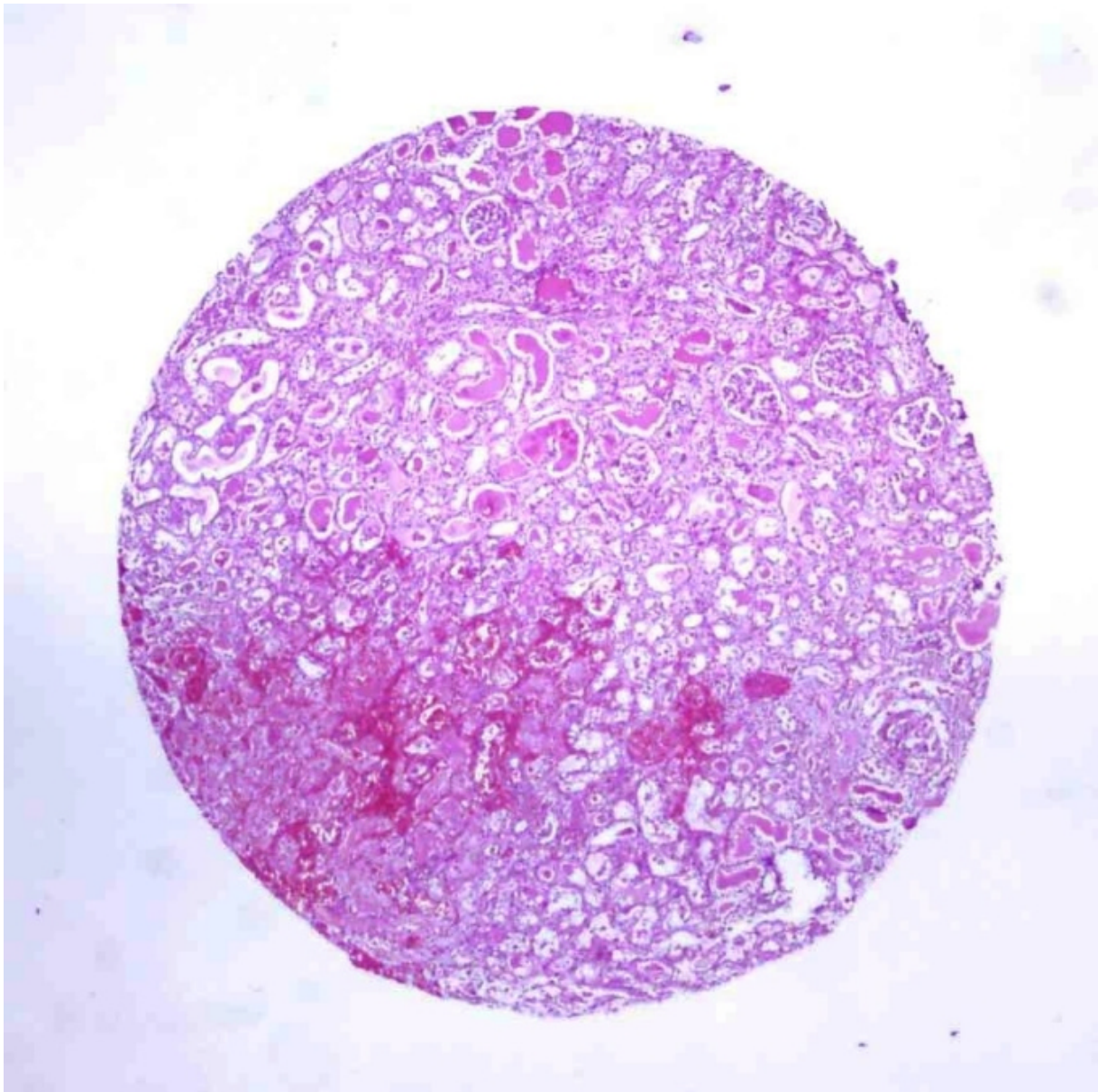


FOTO 3: Area limítrofe de túbulos con necrosis celular y otros con aspecto morfológico aparentemente conservado. (AL)

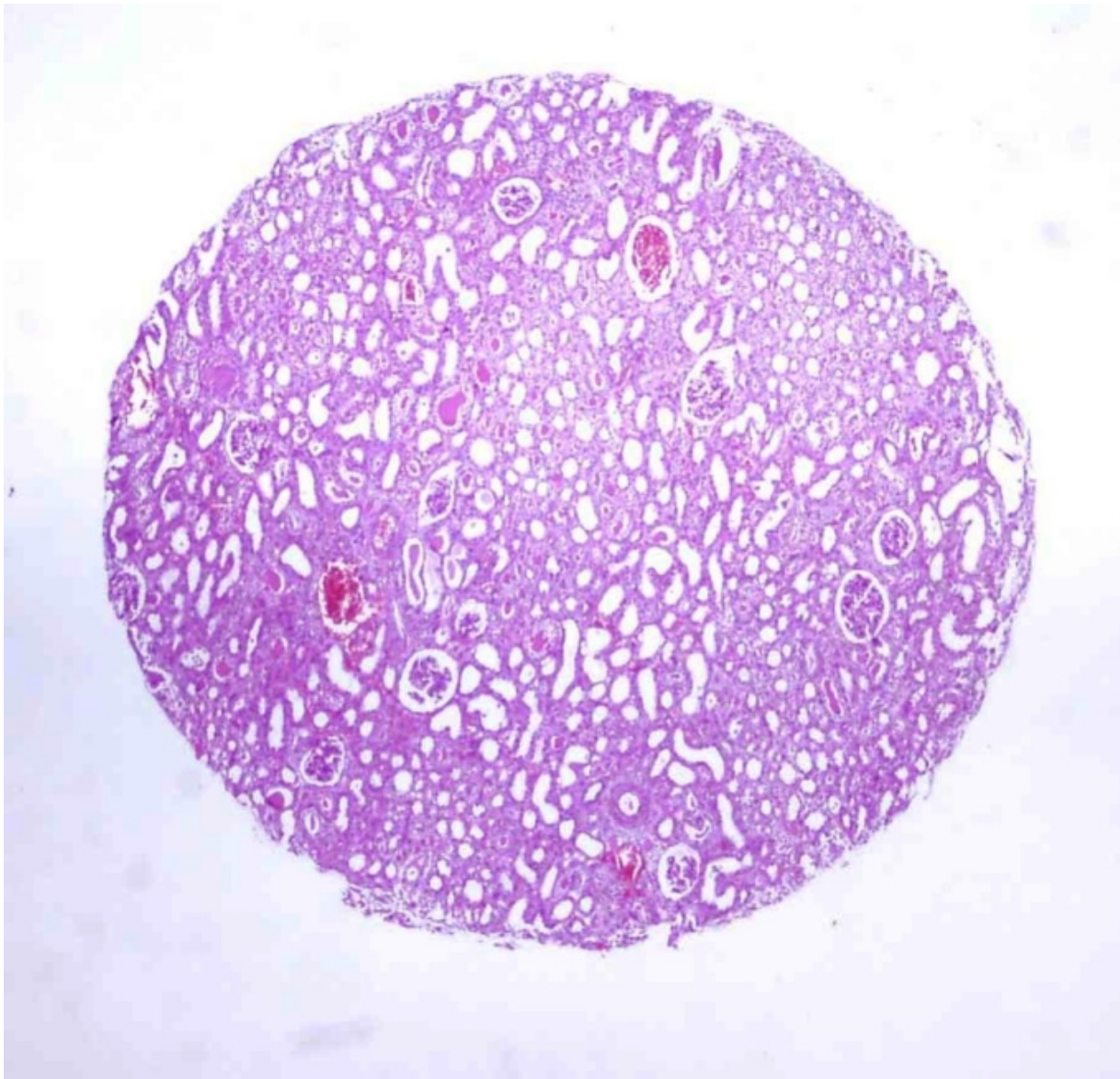


FOTO 4: Area más alejada del infarto, sin alteraciones histológicas. (AN)

## Resultados

### Resultados:

En todos los casos se demostró la expresión de PARP-1 en núcleos de células tubulares necróticas, núcleos picnóticos y núcleos celulares desnudos en la zona del infarto AI, (FOTOS 5 y 6) así como también en núcleos de células tubulares, (FOTO 7) y en menor número en cápsula de Bowman y células endoteliales de capilares glomerulares y arterias de mediano calibre del área limítrofe y zona peri infarto histológicamente conservada. (FOTO 8).

Sin embargo, esta expresión positiva para PARP-1, no se observó en células tubulares de la zona alejada a la lesión isquémica. (FOTO 9), así como tampoco en zonas de infarto plenamente establecidas con pérdida total de todas las estructuras celulares. (FOTO 10)

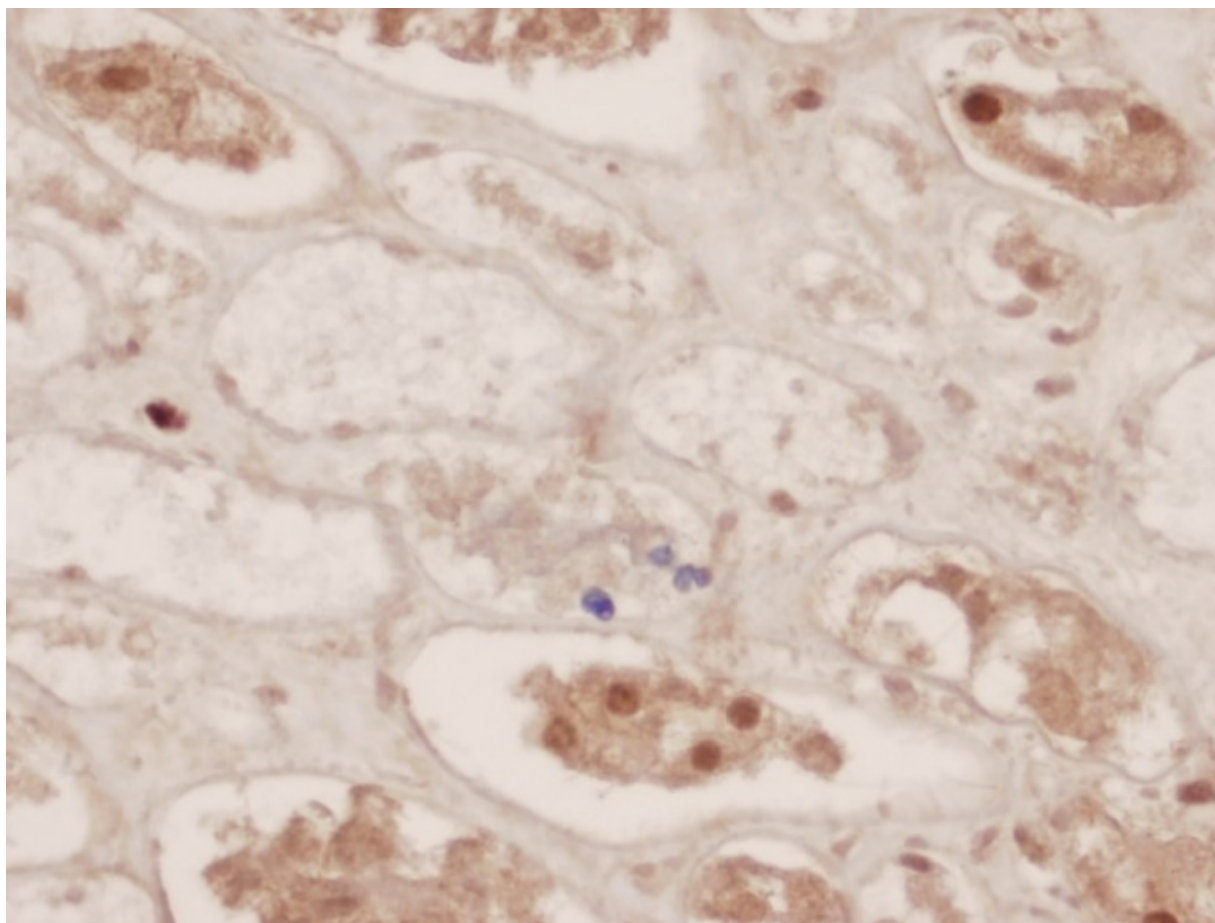


FOTO 5: Expresión de PARP-1 en núcleos de células tubulares necróticas, núcleos picnóticos y núcleos celulares desnudos en la zona del infarto AI.



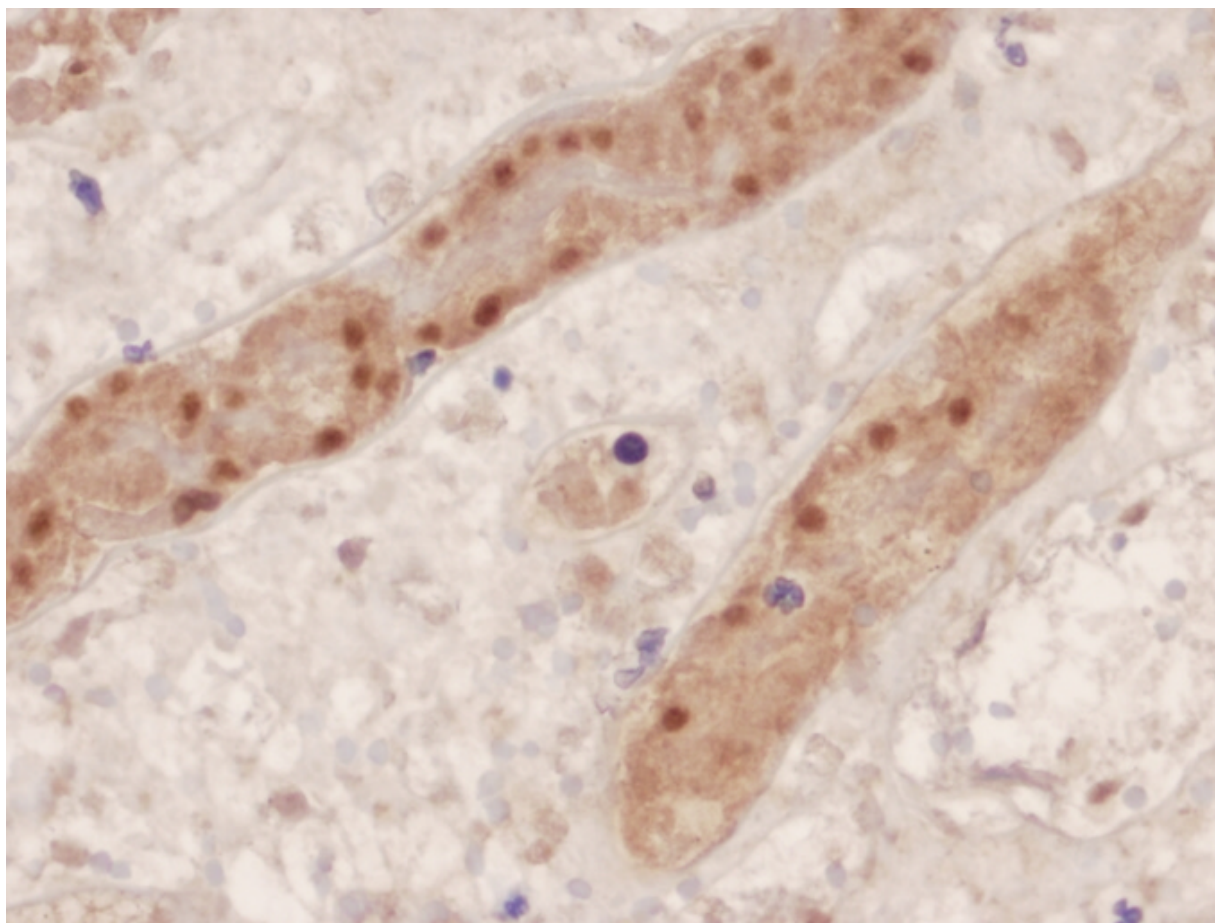


FOTO 6: Expresión de PARP-1 en núcleos de células tubulares necróticas y núcleos picnóticos en la zona del infarto AI

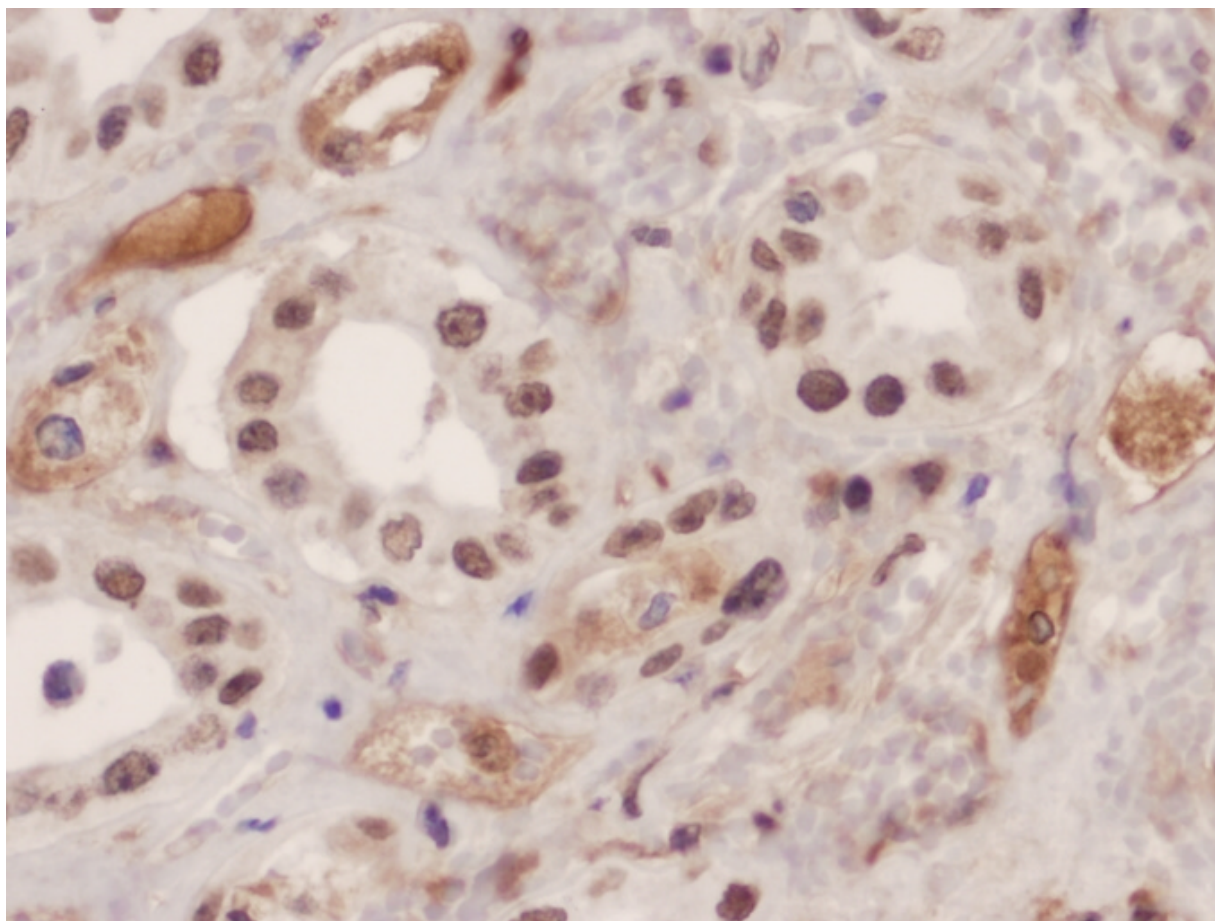


FOTO 7: Expresión de PARP-1 en núcleos de células tubulares del área limítrofe y zona peri infarto histológicamente conservada



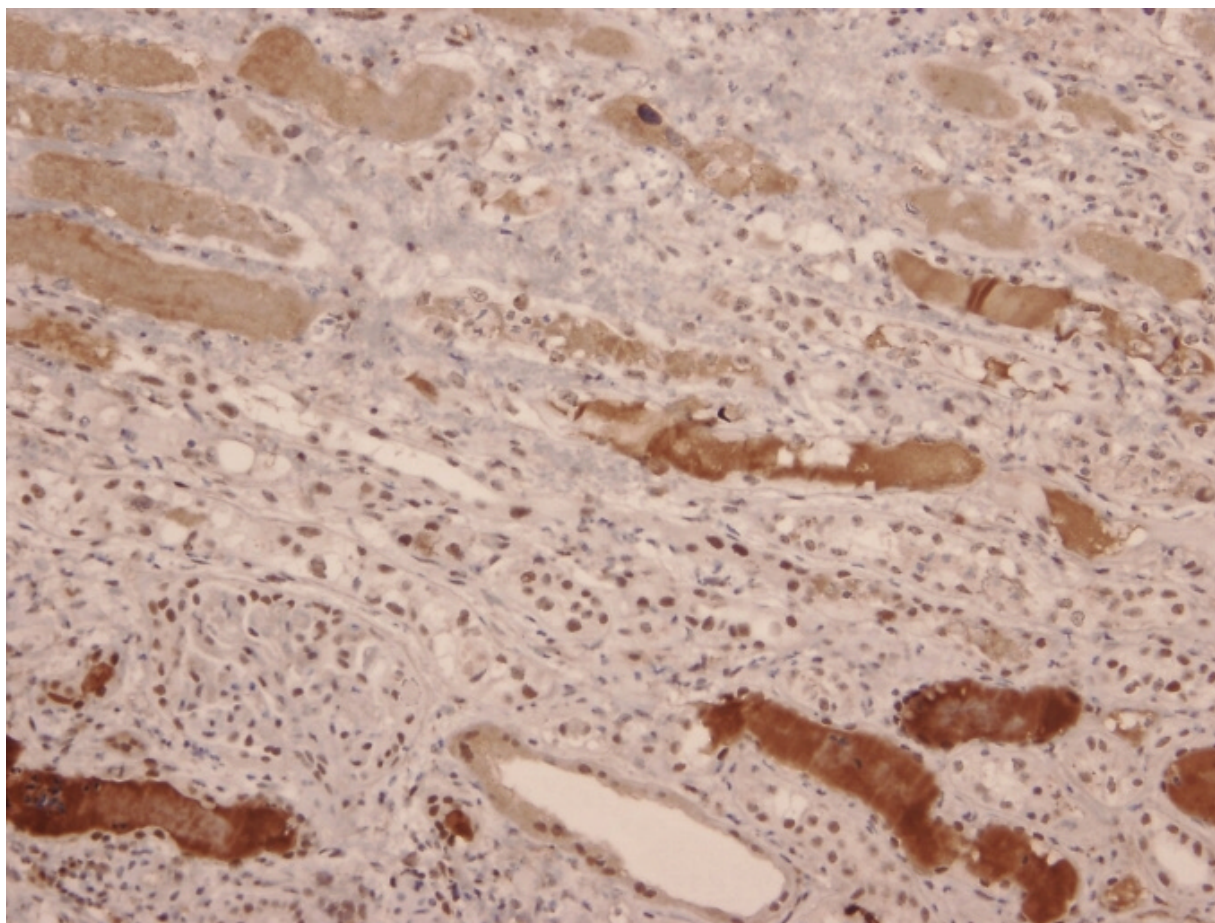


FOTO 8: Expresión de PARP-1 en núcleos de células tubulares y en menor número en cápsula de Bowman y células endoteliales de capilares glomerulares y arterias de mediano calibre del área limítrofe y zona peri infarto histológicamente conservada.

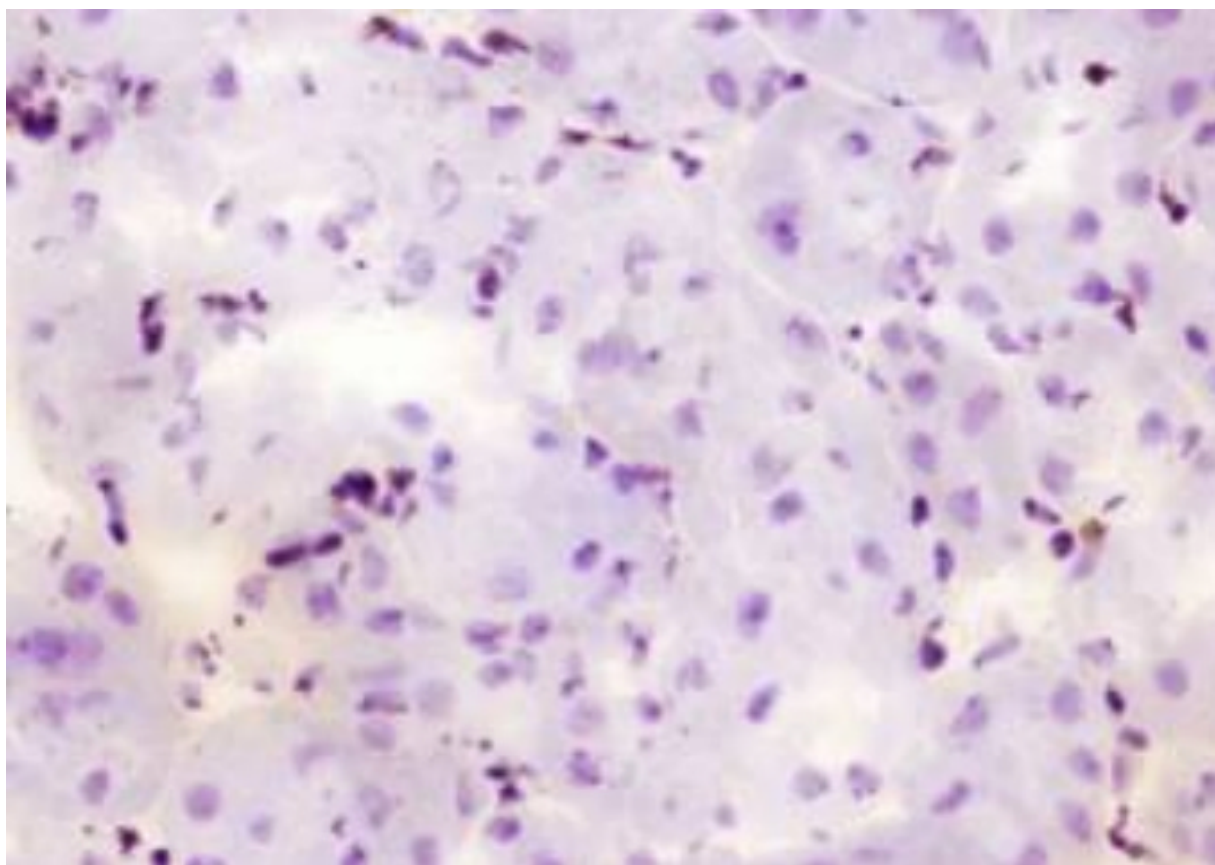


FOTO 9: Expresión negativa para PARP-1 en células tubulares de la zona alejada a la lesión isquémica. (AN)

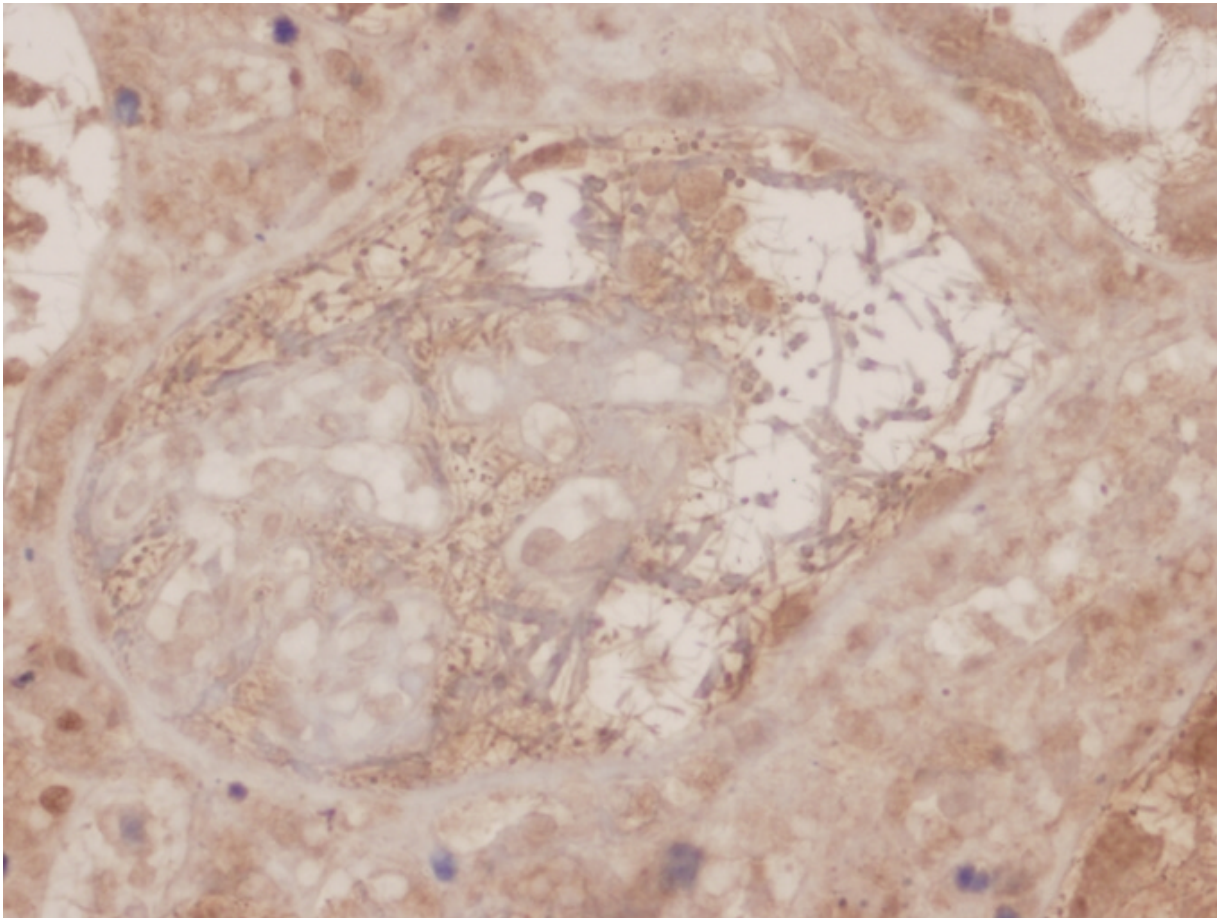


FOTO 10: Expresión negativa para PARP-1, no se observó en zonas de infarto plenamente establecidas con pérdida total de todas las estructuras celulares.

## Conclusiones

### Conclusión:

El hecho de observarse expresión inmunohistoquímica de PARP-1 en núcleos de células tubulares necróticas, núcleos picnóticos y desnudos en la zona del infarto y no demostrarse en células tubulares de la zona alejada a la lesión, implica que esta enzima puede usarse como marcador de la necrosis celular de causa isquémica.

Su expresión en núcleos celulares que no muestran alteraciones morfológicas, localizados principalmente en las zonas próximas al infarto (límitrofes), sugiere que su aplicación es de gran utilidad como marcador precoz de muerte celular en la isquemia