



Inmunoexpresión del factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) y del receptor III del factor de crecimiento transformante β (TGF β -RIII) en pacientes pediátricos con paladar hendido completo o incompleto no sindromático

Immunoexpression of Transforming growth factor- $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) and receptor III of β Transforming Growth Factor (TGF β -RIII) in pediatric patients with complete or incomplete non-syndromic cleft palate

Carolina López González,* Héctor Aquiles Maldonado Martínez,[§] Salvador García López,^{||} María del Carmen Rosas Ramírez,[¶] Fernando López Casillas,** Araceli Pérez González,^{§§} Dulce Haydeé Gutiérrez Valdez^{|||}

RESUMEN

Introducción: El factor de crecimiento transformante $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$) y el receptor III del factor de crecimiento transformante β (TGF β -RIII), regulan las interacciones epitelio-mesenquimales. La falta de expresión de TGF- $\beta 3$ y del TGF- β RIII provoca defectos en la fusión palatina. **Objetivo:** Observar la inmunoexpresión del TGF- $\beta 3$ y del TGF- β RIII en pacientes pediátricos con paladar hendido (PH), completo o incompleto no sindrómico. **Material y métodos:** El diseño de estudio fue observacional, descriptivo, prospectivo y transversal. La muestra consistió de 20 pacientes con PH completo e incompleto, de cinco a 28 meses de edad. Se tomaron muestras del mucoperiostio de la hendidura palatina durante la palatoplastia. Para realizar la inmunohistoquímica, las muestras se procesaron en un aparato VENTANA Benchmark Ultra, con el anticuerpo TGF- $\beta 3$ y TGF β -RIII. Se valoró su expresión, mediante impresión global celular. **Resultados:** La inmunoexpresión del TGF- $\beta 3$ fue mayor en las células epiteliales que en los fibroblastos de pacientes con PH completo e incompleto; sin embargo, la inmunoexpresión del TGF β -RIII fue mayor en los fibroblastos que en células epiteliales de pacientes con paladar hendido completo. **Conclusiones:** Se concluyó que la falta de expresión del TGF β -RIII en epitelio, podría tener relación con la falta de fusión de las crestas palatinas. Sería de gran interés realizar un análisis más profundo de la expresión de TGF- $\beta 3$ y TGF β -RIII, en distintas poblaciones celulares.

Palabras clave: Paladar hendido, factor de crecimiento transformante- $\beta 3$, receptor III del factor de crecimiento transformante- β .

Key words: Cleft palate, transforming growth factor $\beta 3$, receptor III of transforming growth factor β .

ABSTRACT

Introduction: Transforming growth factor $\beta 3$ (TGF- $\beta 3$), and receptor III of transforming growth factor β (TGF β -RIII), regulate epithelial mesenchymal interactions. The lack of TGF- $\beta 3$ and TGF β -RIII expression causes defects in palatal fusion. **Objective:** To observe the immunoexpression of TGF- $\beta 3$ and TGF β -RIII in pediatric patients with non-syndromic complete or incomplete cleft palate (CP). **Material and methods:** The study design was observational, descriptive, prospective and transversal. Samples were taken from 20 complete and incomplete CP patients from five to 28 months of age. Samples of mucoperiostium were removed from the cleft in the palate during palatoplasty. In order to perform immunohistochemistry, samples were processed with VENTANA Benchmark Ultra equipment, using TGF- $\beta 3$ and TGF β -RIII antibody. Immunoexpression was evaluated by means of global cell impression. **Results:** TGF- $\beta 3$ immunoexpression was greater in epithelial cells than in fibroblasts of patients with complete and incomplete CP; however, TGF β -RIII immunoexpression was greater within the fibroblasts than in epithelial cells of patients with complete cleft palate. **Conclusions:** It was concluded that the lack of TGF β -RIII expression in the epithelium may be related to the lack of fusion of the palatal shelves. It would be of great interest to perform a more in-depth analysis of the expressions of TGF- $\beta 3$ and TGF β -RIII within different cell populations.

* Residente de la División de Ortodoncia y Estomatología del Hospital General «Dr. Manuel Gea González».

[§] Subdirector de Patología y Encargado del Departamento de Patología Molecular e Inmunohistopatología del Instituto Nacional de Cancerología.

^{||} Profesor invitado en Ortodoncia en el Hospital General «Dr. Manuel Gea González». Profesor Investigador Titular C en la Universidad Autónoma Metropolitana.

[¶] Profesor adscrito de la División de Ortodoncia y Estomatología del Hospital General «Dr. Manuel Gea González».

** Investigador Titular C, S N I 2, en el Instituto de Fisiología Celular, UNAM.

^{§§} Médico adscrito a la División de Cirugía Plástica y Reconstructiva del Hospital General «Dr. Manuel Gea González».

^{|||} Profesor Titular de Metodología de Investigación, Bioestadística, Seminario de Tesis. BRIMEX Hospital ABC.

INTRODUCCIÓN

Durante la palatogénesis, la expresión del factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) y el TGF- $\beta 2$ aceleran la fusión de los procesos palatinos,^{1,2} mientras que el TGF- $\beta 3$ que es sintetizado por células mesenquimales, contribuye a la dispersión del epitelio del borde medio (EBM) durante la fusión palatina,³⁻⁵ además regula las interacciones del epitelio con las células mesenquimales involucradas en la formación de paladar, piel, dientes, glándulas, entre otros órganos,⁶⁻⁹ por lo que la falla de señalamiento tanto del TGF- β como de la proteína morfogenética de hueso (BPM) conlleva a una variedad de deformidades craneofaciales incluyendo el paladar hendido.¹⁰

Por otra parte, el receptor tipo III, también llamado β -glucano, se distribuye en células mesenquimales y epiteliales, se puede unir a todas las isoformas del TGF- β ,¹¹ el cual puede ser anclado a la membrana o secretado en forma soluble,¹²⁻¹⁴ la pérdida del TGF β -RIII impide la elongación del proceso palatino y su elevación, lo que ocasiona la hendidura,¹⁵ esto se da en parte por una reducción de la expresión de los genes TGF- β y el receptor tipo I de BMP, provocando una supresión del señalamiento hacia el TGF β -RIII, que afecta el equilibrio de dicha señalización para la formación apropiada del tejido.¹⁶

En algunos estudios realizados para evaluar la palatogénesis por medio de inmunohistoquímica, en muestras murinas *in vivo* e *in vitro*, se determinó que la expresión de TGF- $\beta 3$, y TGF β -RIII,¹⁷ en el paladar ocurre cuando las crestas tenían una orientación vertical, esta inmunoeexpresión fue localizada en células epiteliales.

La distribución epitelial se conservó durante la elevación de las crestas palatinas, y destrucción del epitelio medial. Posterior a la fusión palatina, se observó una baja expresión de TGF- $\beta 3$,¹⁷⁻²² por lo que algunos estudios previos mostraron inhibición de la señalización para la activación del TGF- $\beta 3$ en muestras murinas tomadas del paladar hendido.^{23,24} No obstante, ratones deficientes en la expresión de TGF- $\beta 3$ mostraron defectos en la fusión palatina, por lo que la expresión del TGF- $\beta 3$ se limitó estrictamente al epitelio de la línea palatina media en prefusión.²⁵⁻²⁹

En cuanto al receptor, en un estudio experimental de ratón, se demostró que la expresión del TGF β -RIII durante la palatogénesis ocurre a través del epitelio, y se localiza específicamente en el epitelio del borde medio durante la fusión de las crestas palatinas.³⁰⁻³² Además, debido a la falta de la expresión de éste, conlleva a una alteración en la proliferación e inducción de apoptosis celular, así como a una afección

endotelial, reducción de células mesenquimatosas, el cual afecta el desarrollo de osteoblastos.³³

El objetivo del presente estudio, fue el de determinar la inmunoeexpresión del TGF- $\beta 3$ y del TGF β -RIII en una muestra de tejido de la hendidura de pacientes infantiles con paladar hendido completo o incompleto no sindrómico, tratados con palatoplastia.

Previo a la toma de la muestra, se firmó el consentimiento informado y aprobación de la toma de muestra por el Comité Ético de Investigación del Hospital General «Dr. Manuel Gea González» y de los padres o tutores de cada paciente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de la muestra

La muestra consistió en 18 pacientes que presentaron paladar hendido completo, y dos pacientes con paladar hendido incompleto; ambos no sindrómicos, de los cuales, ocho fueron del sexo femenino y 12 masculino, de cinco a 28 meses de edad, todos ellos programados para palatoplastia por primera vez.

Durante el estudio se procedió a recolectar una muestra de tejido sobrante del procedimiento quirúrgico, mismo que fue otorgado por el cirujano plástico a cargo, quien proporcionó el tejido sin implicar un riesgo adicional para la salud de los pacientes.

El tejido fue tomado de la mucosa del paladar de la hendidura de 0.3 a 0.5 cm, el cual fue fijado con formol en una solución buffer de fosfato al 10% (MEYER), las muestras fueron guardadas a 4 °C, durante ocho horas, posteriormente se colocaron en una solución de PBS.

Preparación de la inmunohistoquímica para TGF- $\beta 3$ y TGF β -RIII

Se realizaron cortes de cada muestra, de 3 μ cada uno, con su respectivo control. El anticuerpo del TGF- $\beta 3$ fue probado previamente en muestras de intestino delgado (*Figura 1*), mientras que el anticuerpo del TGF β -RIII se probó previamente en muestras de la línea celular HepG2 (*Figura 2*), y páncreas de humano.

Las muestras de tejido, se dejaron secar y desparafinar a 60 °C durante toda la noche. La inmunohistoquímica se corrió en un aparato VENTANA BenchMark Ultra.

Para el anticuerpo monoclonal primario TGF β -RIII (ab78421, abcam), se utilizó el sistema de detección UltraView (Referencia 760-500, lote E06611, caducidad 20-09-2016). Se seleccionó la opción de des-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8708293>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8708293>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)