



P-012 - Mejoras en la selección de donantes para xenotrasplante: correlación entre expresión génica para hCD55 en distintos tejidos de cerdos transgénicos y con la expresión proteica

G. Ramis¹, L. Martínez-Alarcón², J.J. Quereda³, L. Mendonça⁴, J.M. Abellana⁵, A. Muñoz Luna¹, P. Ramírez Romero² y P. Parrilla²

¹Universidad de Murcia, Espinardo. ²Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, El Palmar. ³Centro nacional de Biotecnología-CSIC, Madrid. ⁴Escola de Veterinaria, Universidade Federal de Goias, Goiania (Brazil).

Resumen

Objetivos: Determinar la expresión génica para hCD55 en 5 cerdos transgénicos y correlacionar el valor obtenido en tejidos valiosos para xenotrasplante con tejidos periféricos y células sanguíneas, y así evitar tener que tomar muestras de los órganos potencialmente trasplantables. Correlacionar la cantidad de ARNm con la cantidad de proteína en el tejido.

Métodos: Se tomaron muestras ultracongeladas de distintos tejidos en 5 cerdos transgénicos para hCD55, por una parte de tejidos valiosos para xenotrasplante (riñón, corazón, intestino, hígado y pulmón), así como tejidos no valiosos (aorta, lengua, músculo esquelético, piel, cava, bazo, nódulo linfático) o sangre (completa o mononucleares aisladas; PBMC). Se extrajo ARN de dichas muestras y se cuantificó la cantidad de ARNm para dicho gen mediante PCR en tiempo real (Martínez-Alarcón et al., 2010). Igualmente, de los tejidos valiosos para xenotrasplante se extrajeron extractos proteicos y se cuantificó la cantidad de hCD55 mediante western-blot. La expresión génica se normalizó frente a β -actina, GAPDH y ciclofilina., mientras que la proteica se normalizó frente a β -actina. Se determinaron coeficientes de correlación de Spearman entre tejidos valiosos y no valiosos y entre expresión génica y proteica.

Resultados: La expresión génica normalizada para hCD55 aparece en la figura 1. Los tejidos con mayor expresión génica fueron los sanguíneos y aquellos tejidos con una fuerte irrigación (pulmón, hígado, nódulo linfático y bazo). No todos los cerdos expresaron hCD55 de la misma manera, siendo la cerda 2 la que mayor expresión génica mostró en todos los casos. Se observó correlación entre sangre total y el corazón, ($r = 0,643$, $p = 0,01$) e intestino ($r = 0,629$, $p = 0,012$) y entre PBMC con hígado ($r = 0,741$, $p = 0,006$) y pulmón ($r = 0,804$, $p = 0,002$). Entre tejidos periféricos y tejidos valiosos para xenotrasplante se observó correlación entre lengua y corazón ($r = 0,871$, $p < 0,0001$), intestino ($r = 0,861$, $p < 0,0001$), pulmón ($r = 0,861$, $p < 0,0001$) y riñón ($r = 0,636$, $p = 0,011$); entre piel e hígado ($r = 0,557$, $p = 0,31$) y riñón ($r = 0,814$, $p < 0,0001$) y entre músculo esquelético e hígado ($r = 0,646$, $p = 0,009$). Se encontró proteína en todos los tejidos, con diferencias entre animales y tejidos (fig. 2). La mayor expresión se observó en el corazón. Hubo correlación entre la expresión génica y proteica en hígado ($r = 0,991$, $p = 0,001$) e intestino ($r = 0,866$, $p = 0,049$) y tendencia para el pulmón ($r = 0,810$, $p = 0,097$). El corazón no tuvo correlación entre la cantidad

normalizada de ARNm y de proteína ($r = 0,018$, $p = 0,977$).

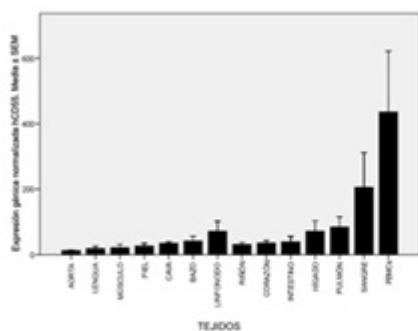


Figura 1. Expresión génica en los distintos tejidos.

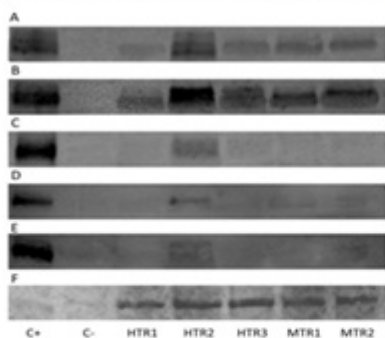


Figura 2. Expresión proteica en A) hígado, B) corazón, C) riñón, D) pulmón, E) intestino y F) β -actina en hígado como ejemplo.

Conclusiones: Hay una buena correlación entre la cantidad de ARNm para hCD55 y la cantidad de proteína presente en el tejido en los órganos valiosos para xenotrasplante, excepto en corazón. Por tanto la cantidad de ARNm podría ser una herramienta para predecir la capacidad de prevención de ARNm. Usando tanto sangre como tejidos periféricos se puede predecir la expresión génica en tejidos valiosos sin tener que tomar muestras de los mismos.