

APLICACIÓN DE LOS MICROARREGLOS DE ADN Y EL RT-PCR CUANTITATIVO PARA EL ESTUDIO DE LA CIRROSIS EXPERIMENTAL EN RATA Y LAS ESTRATEGIAS DE SU REVERSIÓN.

Pérez Carreón J.I., Martínez Pérez L, Vidrio Gómez S., Ramírez Salcedo J., Hernández Muñoz R., Chagoya de Sánchez V.

Instituto de Fisiología Celular. UNAM. Circuito Exterior s/n Ciudad Universitaria, 04510 México, D.F. Tel. 56225614. E-mail. vchagoya@ifc.unam.mx

El modelo de administración crónica de CCl₄ (10 semanas) es una excelente herramienta para estudiar la patología de la cirrosis. Esta enfermedad se caracteriza por la acumulación progresiva de tejido fibrótico que afecta las funciones del tejido sano. Existen sustancias hepatoprotectoras con capacidades para bloquear la fibrogénesis y el estrés oxidativo, inducir actividades colagenolíticas y de la proliferación celular del parénquima, y que repercuten en la recuperación de la función hepática. Con el objetivo de conocer los genes desregulados en el modelo experimental de cirrosis que pudieran revertirse por un hepatoprotector (HP) se estudió la expresión genética a gran escala con microarreglos de ADN (~5000 genes) y por RT-PCR cuantitativo (14 genes) en el hígado de las ratas inducidas con CCl₄ por 10 semanas (CiT0), en ratas sacrificadas 5 (CiT5) o 10 (CiT10) semanas después del CCl₄ y en ratas tratadas con HP por 5 (Ci+HP-5) o 10 (Ci+HP-10) semanas después de la inducción con CCl₄.

Con la tinción tricrómica de Masson se mostró que el hígado de las ratas inducidas a cirrosis tratadas con el HP presentó menor fibrosis que en las ratas no tratadas. La expresión de los genes en los grupos experimentales fue comparada con la del hígado normal. Con los valores del cociente de expresión (Ratio), estadísticos (Z-score) y la información del RGD (rat genome database) se construyó una base de datos en Microsoft-Access que facilitó el manejo de datos de los 5,000 genes. El análisis no supervisado proporcionó una lista de 414 genes diferenciales sobre-expresados (Zscore >2 SD) ó bajo-expresados (Zscore <-2 SD) en alguna de las condiciones de cirrosis (CiT0, CiT5, CiT10). De dichos genes, el 69 % tendió a valores normales (Zscore ~0) en las ratas cirróticas tratadas con el HP (Ci+HP-5 y Ci+HP-10). El agrupamiento jerárquico mostró gráficamente como la desregulación en la expresión de los 414 genes diferenciales en la cirrosis cambia a valores que tienden a lo normal en el tratamiento con el HP. Ejemplo de los genes sobre-expresados y revertidos por el HP son el *Tgfb1*, *Fn1*, *Apoa1*, *C9*, *Colq*, *fgf20*, y ejemplo de los genes bajo-expresados y revertidos son el *Pparg*, *Ass*, *Gna11*, *Pak3* entre otros. Los datos de expresión genética se incorporaron al sistema GenMAPP lo que permitió visualizar múltiples rutas metabólicas y de señalización celular que podrían estar implicadas en el desarrollo de la cirrosis y que pudieran ser los blancos de los hepatoprotectores. En Conclusión, los microarreglos de ADN y el RT-PCR cuantitativo son metodologías con potencial para el descubrimiento de los genes implicados en el desarrollo de la cirrosis experimental. Los datos vertidos por el análisis de expresión genética a gran escala constituyen una importante ventana hacia las moléculas blanco que permitirán estrategias de tratamiento de la cirrosis con hepatoprotectores.

Apoyo parcial por CONACYT 41433-Q