

## TRABAJOS ORIGINALES

Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"

### **CORRELACIÓN DEL ADN Y DEL ANTÍGENO DE SUPERFICIE DEL VIRUS DE HEPATITIS B EN TEJIDOS DE ANIMALES TRANSGÉNICOS**

*Dra. Elsa García Castillo, Dra. Victoria E. González Ramírez, Dr. Antonio González Griego, Dr. Abel Salgado Borges, Lic. Alfonso Fernández, Prof. Mario Pezzella y Dra. Alina Alerm González*

#### RESUMEN

Se estudió la presencia del ácido desoxirribonucleico (ADN) que codifica para el antígeno de superficie del virus de hepatitis B (AgsHB) en los tejidos de ratones híbridos de transgénicos/BALB-c donde se había expresado el fenotipo previamente. Los órganos extraídos se evaluaron por la técnica de inmunohistoquímica, por un ELISA cuantitativo y reacción en cadena de la polimerasa (RCP) para la detección del ADN viral. En los tejidos estudiados se encontró ADN viral, excepto en el intestino donde no se evidenció su presencia en ninguno de los especímenes. Con la técnica de inmunohistoquímica no se logró detectar expresión de la proteína viral en intestino, músculo y vesícula seminal, sólo muy baja expresión en cerebro. Mediante la técnica inmunoenzimática no se detectó AgsHB en músculo, intestino, cerebro y estómago. Al evaluar el suero de la totalidad de los animales por medio de la técnica inmunoenzimática y con la RCP, 100 % de los sueros fueron positivos.

*Descriptor DeCS:* ANTIGENOS DE SUPERFICIE DE LA HEPATITIS B, REACCIÓN EN CADENA POR POLÍMERASA; ADN VIRAL; RATONES TRANSGÉNICOS; RATONES CONSANGUÍNEOS BALB C; TEJIDOS.

Avances recientes en la transferencia génica en mamíferos han permitido lograr animales transgénicos con nuevas funciones, entre las líneas de importancia se encuentra la de desarrollar modelos experimentales en animales que expresen una proteína de interés.<sup>1</sup> En trabajos conjuntos entre el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología y el Departamento de Inmunología del Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón", se ha desarrollado un modelo en ratón, que expresa el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (AgsHB) en tejidos, demostrada fenotípicamente su presencia, mediante una técnica inmunohistoquímica (González A. Detección del antígeno de super-

ficie del virus de la hepatitis B en órganos de ratones transgénicos mediante el empleo de la técnica inmunohistoquímica del complejo avidina-biotina [Tesis para optar por el grado de Licenciatura en Biología] 1997:30 pp). El propósito de este trabajo consistió en probar la presencia del ADN que codifica para el AgsHB en los tejidos donde se había expresado el fenotipo antes.

#### MÉTODOS

Se evaluaron muestras de corazón, hígado, pulmón, bazo, intestino, vesículas

seminales, músculo liso, cerebro, estómago, riñón y suero, de 5 animales que fueron sometidos a un desangrado con abundante solución salina y EDTA 25 mM, para evitar la presencia en ellos del marcador circulante en sangre. Los órganos extraídos se maceraron y se alicuotaron para ser evaluados por la técnica inmunohistoquímica, por un ELISA cuantitativo y para detección del ADN viral mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP). Se emplearon en la amplificación cebadores que flanquean la región que codifica para la proteína S del virus de hepatitis B.<sup>2</sup> El estudio del producto amplificado se realizó en geles de agarosa teñidos con bromuro de etidio.

## RESULTADOS

En 9 de los 10 tejidos estudiados de los 5 animales, el hígado, estómago, riñón, corazón, pulmón, vesículas seminales, cerebro, bazo y músculo liso se detectó presencia del ADN viral. La expresión de ADN en el músculo se obtuvo en 80 % de los

animales, en el intestino no se evidenció presencia del ADN viral en ninguno de los especímenes. Con la técnica inmuno-histoquímica no se logró detectar expresión de la proteína viral en intestino, músculo y vesícula seminal, y muy baja expresión en cerebro. Mediante la técnica inmunoenzimática no se detectó AgsHB en músculo, intestino, cerebro y estómago. Al evaluar los sueros de la totalidad de los animales con la técnica inmunoenzimática y con RCP, 100 % de éstos fueron positivos.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos se corresponden con la mayor sensibilidad de la técnica de extracción y amplificación del ADN. El empleo de esta técnica demuestra la expresión genotípica del virus de hepatitis B en los diferentes órganos. Este resultado es importante porque confirma el desarrollo de un modelo experimental de expresión en tejidos de un marcador de infección viral en animales que no desarrollan la enfermedad y permite evaluar en ellos el efecto de diferentes regímenes terapéuticos.

## SUMMARY

A study was made on the presence of DNA coding for Hepatitis B surface antigen (HbsAg) in hybrid transgenic /Balb-c mice where the phenotype had not been expressed before. The extracted organs were evaluated by immunohistochemistry, by quantitative ELISA and polymerase chain reaction (PCR) for detecting viral DNA which was found in the studied tissues except for the intestines in which none of the species was evident. The immunohistochemical technique did not manage to detect the expression of viral protein in the intestines, muscles and seminal vesicle, only a very low expression of such protein in the brain. The immunoenzymatic technique did not detect HbsAg in muscles, intestines, brain or stomach. However, when evaluating the sera of all the animals by immunoenzymatic technique and PCR, 100 % of the sera were positive to viral DNA.

*Subject headings:* HEPATITIS B SURFACE ANTIGENS; POLYMERASE CHAIN REACTION; DNA, VIRAL; MICE TRANSGENIC; MICE, INBRED BALB C. TISSUES.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castro FO. Expresión del gen del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B en órganos de ratones transgénicos. *Interferón Biotecnol* 1989;6:251-7.
2. Marin MG. *Tecniche Di Amplificazione Genica: Dal Laboratorio Alla Pratica Clinica*. Italia: Edizioni Soborna Milano 1996:14-92.

Recibido: 29 de noviembre de 1999. Aprobado: 17 de diciembre de 1999.  
Dra. *Elsa García Castillo*. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón". Avenida 146 No. 3102 esquina a 31, reparto Cubanacán, municipio Playa, Ciudad de La Habana, Cuba. CP 11600.