

EXPRESIÓN DE FACTOR V DE LA COAGULACIÓN EN DISTINTAS ETAPAS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO EN RATÓN

De Pablo-Moreno JA^{1†}, Serrano LJ^{1†}, García-Arraz M², Revuelta L³, Miguel-Batuecas A¹, Sánchez MJ^{4††}, Liras A^{1††}

¹Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense, Madrid, España. ²Fundación Jiménez Díaz, Hospital Universitario e Instituto de Investigación en Salud FJD, IIS-FJD UAM, Madrid, España. ³Departamento de Fisiología, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense, Madrid, España. ⁴Centro Andaluz de Biología del Desarrollo (CABD), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Junta de Andalucía, Universidad Pablo de Olavide, Sevilla, España.

[†]Estos autores contribuyeron de igual forma en la primera autoría. ^{††}Estos autores contribuyeron de igual forma como investigadores principales. ✉ jdepablo@ucm.es, luiserr@ucm.es, aliras@ucm.es

Introducción

El ratón presenta unos niveles de factor V muy elevados respecto al humano (1) y pudiera jugar un papel importante en el desarrollo embrionario de la especie. Actualmente no ha sido posible generar un modelo animal murino deficiente en dicho factor, ya que su déficit a nivel embrionario provoca la interrupción de la embriogénesis y muerte prematura de los neonatos (2).

En este trabajo se caracteriza la expresión del gen para el factor V (*F5*) en distintos estadios del desarrollo embrionario, analizando la evolución de la expresión de *F5* desde el día 8 (E8) hasta el día 12 (E12) de gestación.

Metodología

Se utilizaron ratones de la cepa CBA x C57BL/6 estableciendo el día 0 (E0) al detectar el tapón vaginal. Se obtuvieron embriones enteros de estadios E8 a E12 de desarrollo para evaluar la expresión espacio-temporal de *F5*. Además, se utilizaron protocolos ya descritos para la preparación de las células de tejidos embrionarios y de individuos adultos (3,4). También se extrajo el RNA total de todas las muestras de al menos dos embriones y por triplicado. Se llevó a cabo el estudio de expresión del gen *F5* mediante qPCR aplicando el método de expresión relativa de genes ($2^{-\Delta Ct}$). Por último, para evaluar la significación estadística en la expresión de *F5* entre muestras del mismo estadio, se realizó un test de múltiples rangos por el método LSD de Fisher, con el software estadístico Graphpad Prism 8.

Resultados

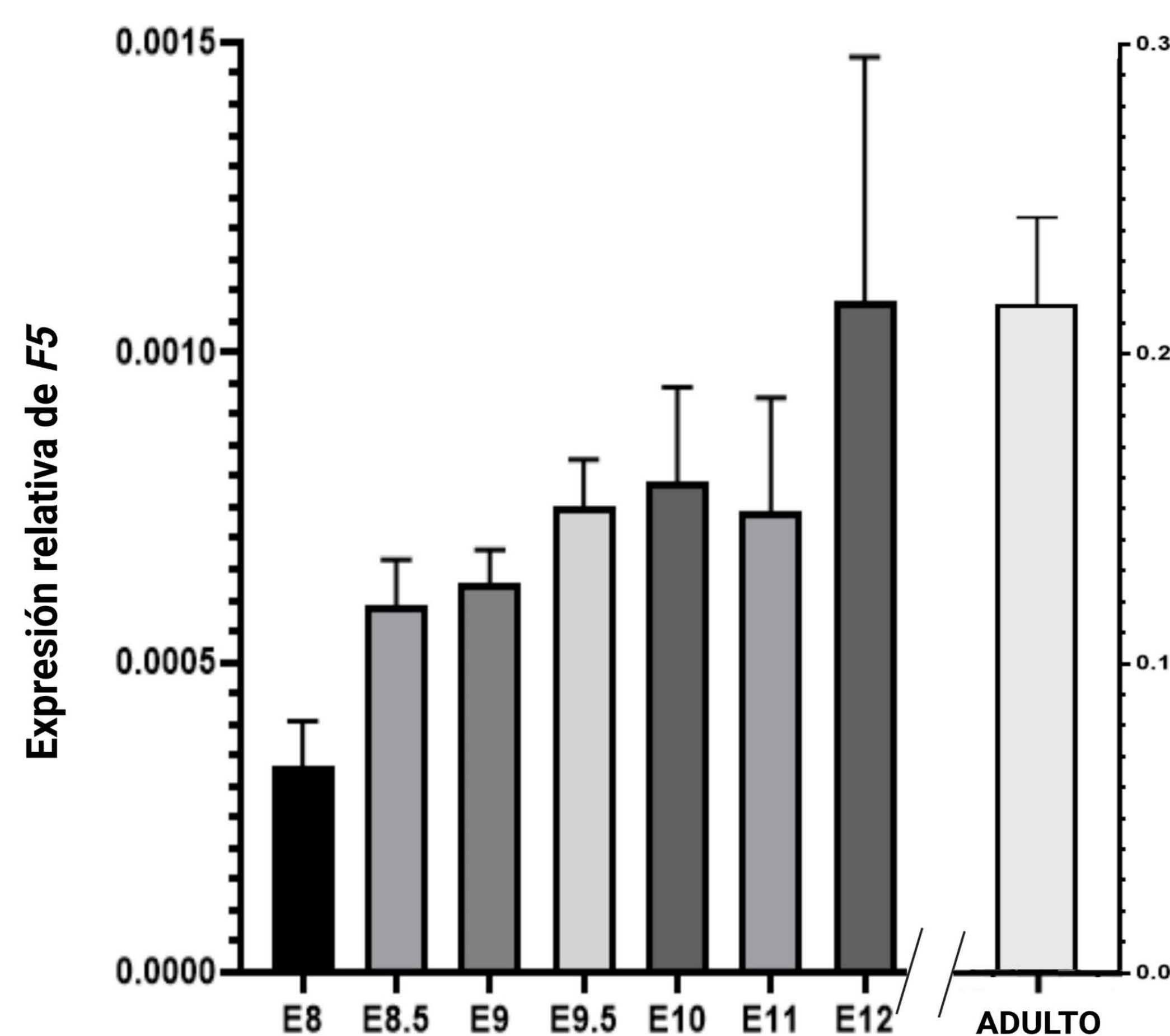


Figura 1. Expresión relativa de *F5* en embriones de ratón ($2^{-\Delta Ct}$) en diferentes estadios embrionarios y en hígado adulto (media con SD).

Los análisis mostraron un **incremento** de expresión de *F5* desde el **estadio E8 al E12**. En tejido hepático adulto se obtuvieron niveles esperados de expresión de *F5* (0.216 ± 0.028) (Figura 1).

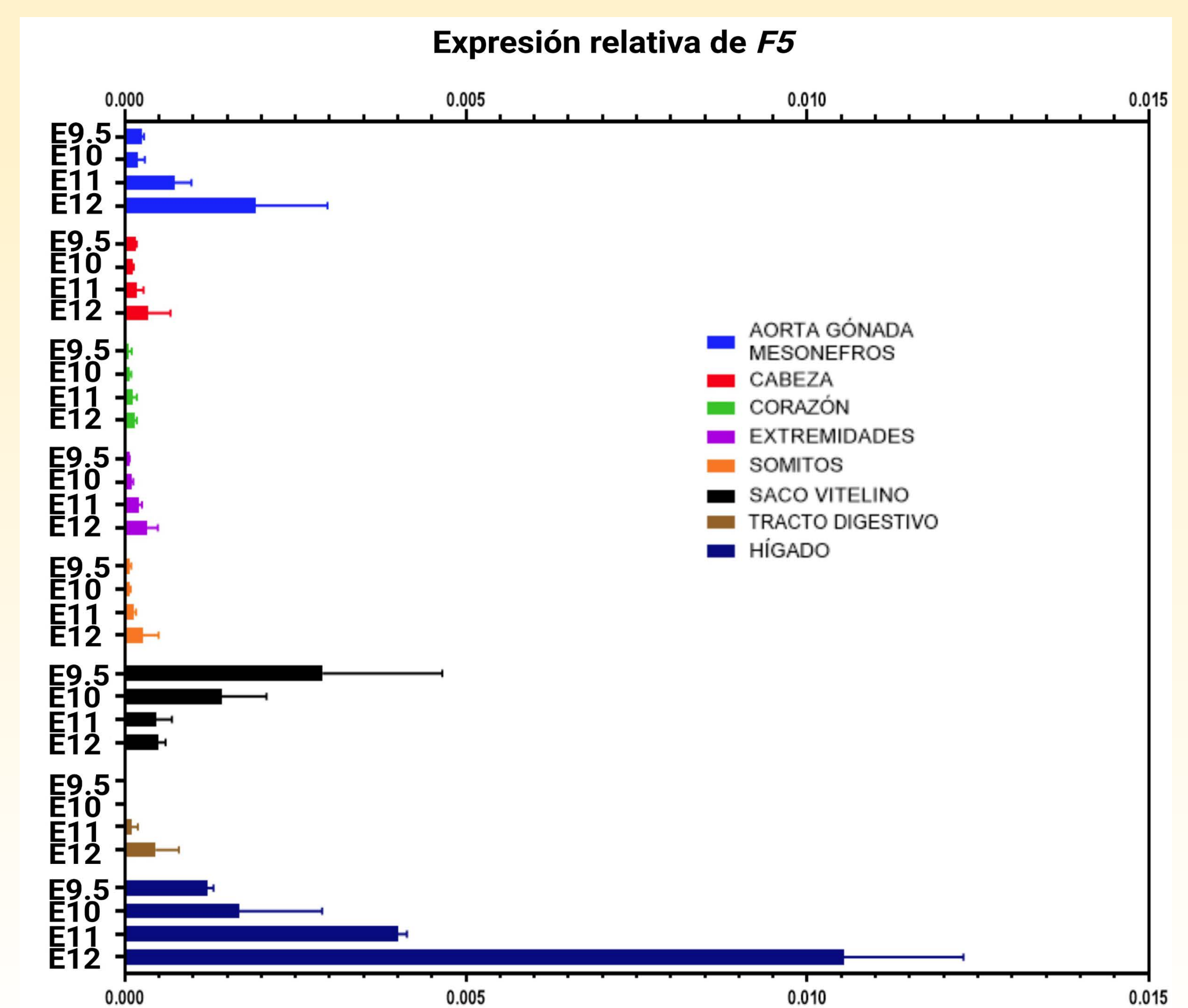


Figura 2. Expresión relativa de *F5* ($2^{-\Delta Ct}$) en diferentes tejidos en los estadios E9.5, E10, E11 y E12 (media con SD).

Desde el estadio 9.5 al 12 existe **poca variación** en los niveles de expresión *F5* en tejidos de la **cabeza, corazón, extremidades, tracto digestivo y somitos** (Figura 2); disminuyendo notablemente dicha expresión en el **saco vitelino** a partir de los estadios más tempranos. Sin embargo, se observa un **gran incremento** en la expresión de *F5* en los **tejidos hepáticos y la región AGM** (aorta-gónada-mesonefros).

Conclusiones

El factor V es una **proteína fundamental** durante el desarrollo embrionario en el ratón, lo que podría explicar su alta expresión en estadios tempranos del desarrollo embrionario. El **saco vitelino** es el primer gran productor de factor V, lo que podría explicar la aparición de **anormalidades en esa localización** en **individuos con deficiencia** de este factor de la coagulación (2). Al **avanzar** el desarrollo embrionario, son la **región AGM y el hígado** especialmente los principales **productores** de la proteína.

Referencias

- De Pablo-Moreno JA, Liras A, Revuelta L. Standardization of Coagulation Factor V Reference Intervals, Prothrombin Time, and Activated Partial Thromboplastin Time in Mice for Use in Factor V Deficiency Pathological Models. *Front. Vet Sci.* 2022
- Cui J, O'Shea KS, Purkayastha A, Saunders TL, Ginsburg D. Fatal haemorrhage and incomplete block to embryogenesis in mice lacking coagulation factor V. *Nature.* 1996.
- Cañete A, Comaills V, Prados I, Castro AM, Hammad S, Ybot-Gonzalez P, et al. Characterization of a Fetal Liver Cell Population Endowed with Long-Term Multiorgan Endothelial Reconstitution Potential. *Stem Cells.* 2017.
- Sanchez M, Gottgens B, Sinclair AM, Stanley M, Begley CG, Hunter S, et al. An SCL 3' enhancer targets developing endothelium together with embryonic and adult haematopoietic progenitors. *Development.* 1999.