

PRESENTACIÓN DE UN MICROARRAY DE DNA DE BAJA DENSIDAD PARA COMPARAR PERFILES DE EXPRESIÓN GÉNICA EN NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

P. Álvarez^a, P. Sáenz^b, D. Arteta^b, A. Martínez^b, M. Pocoví^{a,c}, L. Simón^b y P. Giraldo^{a,d}

^aInstituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS) ^bPROGENIKA BIOPHARMA S.A, Derio. 3

^cDepartamento de Bioquímica, Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza,

^dServicio de Hematología, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza,

Fundamento: La tecnología microarray se ha convertido en una poderosa herramienta para analizar la expresión de miles de genes simultáneamente. Esta técnica se está aplicando al estudio de diferentes neoplasias, en el caso de las neoplasias hematológicas se produce una compleja variedad de perturbaciones moleculares que influyen en las diferencias clínicas y evolutivas que se producen en pacientes con el mismo proceso.

Diseño y métodos: Para caracterizar la firma génica asociada a diferentes neoplasias hematológicas (NH) se diseñó un chip de DNA de baja densidad con 538 genes seleccionados por su relación con los mecanismos de proliferación, diferenciación, regulación y apoptosis del sistema hematopoyético. Para determinar la reproducibilidad del chip se replicaron los experimentos de forma que se generó un chip que contenía 8192 spots distribuidos en 32 áreas con 16 filas x 16 columnas. Se extrajeron muestras de cRNA de sangre periférica sobre tubos PaxGene de 76 pacientes diagnosticados consecutivamente de diferentes NH (LAM, LAL, LMC, LLC, SMD), además se extrajo cRNA de 15 sujetos sanos y 9 muestras de líneas celulares Jurkat y U937 manipuladas en las mismas condiciones. El análisis de expresión se efectuó por procedimiento de cluster jerárquico aplicando el test de Welch con corrección de Bonferroni.

Resultados: Una vez completado el proceso de extracción, hibridación, marcado y lectura se observaron diferencias de expresión significativas entre las muestras de sujetos sanos y los pacientes y el cRNA de las líneas celulares. Se analizaron los perfiles de expresión asociados a cada variedad de NH. La firma génica distinguía perfectamente los pacientes con neoplasias linfoides de neoplasias mieloides y de sujetos sanos, también permitía distinguir LAM de SMD. El grupo de pacientes mas numeroso correspondía a LLC (59), el chip diferenciaba dos grupos en estas muestras. Las diferencias de expresión significativas se han validado para algunos genes mediante RT-PCR.

Comentarios: El análisis de expresión utilizando un chip de baja densidad ha demostrado su utilidad para clasificar NH y su potencial utilidad para distinguir subgrupos dentro de estas entidades.

Este trabajo se ha realizado con las siguientes ayudas: FEHHA, MMA y PROFIT