

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA EXPRESIÓN DE MIRNA EN TEJIDO CONGELADO E INCLUIDO EN PARAFINA

Pairet S^a. Navarro A^b. Pons A^b. Gaya A^b. Gelabert L^c. Martinez A^c. Urbano-Ispizua A^a. Montserrat E^a. Monzó M^b.

^aHematología Hospital Clínic. Barcelona. ^bLaboratorio de Oncología Molecular, Departamento de Anatomía y Embriología Humana. Universidad de Barcelona. ^cAnatomía Patológica Hospital Clínic. Barcelona.

Introducción: Los microRNA (miRNA) son pequeñas moléculas de RNA (22-25 nt), que regulan la expresión de genes mediante la inhibición de la traducción del RNA mensajero a proteína. Recientemente se están utilizando muestras de tejido parafinado para el análisis de los miRNAs. Existe controversia en cuanto a la validez del tejido parafinado respecto al congelado para la detección de miRNAs.

Objetivo: Comparar la expresión de miRNAs y small nuclear RNAs (RNU) en ganglio linfático preservado de dos maneras diferentes: una fracción del ganglio congelada en OCT y la otra fracción, fijada en parafina.

Material y métodos: Tras la obtención de las muestras, se ha realizado una extracción de RNA total a partir de tejido parafinado mediante RecoverAll Total Nucleic Acid Isolation de Ambion y a partir de tejido congelado mediante Trizol. En la RT-PCR, el RNA es transcrito a cDNA termoestable para su posterior amplificación mediante TaqMan PCR con los miRNAs y los RNUs Let7a, miR-16, miR330, RNU6b, RNU19, RNU66 para cuantificar su expresión utilizando como normalizador el miRNA Let7a. El estudio se realizó sobre un total de 24 (12 parafinadas y 12 congeladas) muestras de ganglios normales o reactivos.

Resultados: Respecto al ciclo de amplificación de las muestras (Ct), se observa que en las muestras de parafina los miRNA Let7a, miR-16 y miR330 y los RNU19 y RNU66 amplifican 2 ciclos más tarde que las muestras congeladas. (Let7a: p=0,01; miR-16: p=0,002; miR-330: p=0,002; RNU19: p=0,001; RNU66: p=0,008). En RNU6b las muestras de parafina y de tejido congelado amplifican al mismo tiempo y no se observan diferencias significativas (p=0,3). No se observan diferencias significativas en cuanto a la cantidad de expresión (RQ) en los miRNA (miR -16, miR-330) y en los RNU19 y RNU66 (miR-16: p=0,5; miR-330: p=0,6; RNU19: p=0,7; RNU66: p=0,2) respecto al miRNA Let7a, aunque sí se observaron diferencias en el RNU6b (p=0,009).

Conclusiones: Tras el análisis, se observa que no existen diferencias en cuanto a la cantidad de expresión realtiva (RQ) de los miRNA Let7a, miR-16 y miR-330 y de los RNU19 y RNU66 en las mismas muestras de tejido parafinado y congelado. Ello apoya que el tejido conservado en parafina es adecuado para la detección de miRNAs, lo que abre nuevas posibilidades para estudios retrospectivos.