

## ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN IN SITU DE MICRORNAS EN CÉLULAS DE HODGKIN Y REED-STERNBERG (H/RS) Y EN EL MICROAMBIENTE NO TUMORAL EN LINFOMA DE HODGKIN (LH)

A. Navarro<sup>a</sup>, A. Gaya<sup>b</sup>, A. Martínez<sup>c</sup>, A. Urbano-Ispizua<sup>b</sup>, A. Pons<sup>a</sup>, O. Balague<sup>c</sup>, B. Gel<sup>a</sup>, P. Abrisqueta<sup>b</sup>, A. López-Guillermo<sup>b</sup>, R. Artells<sup>a</sup>, E. Montserrat<sup>b</sup>, M. Monzo<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Anatomía y Embriología Humana, Fac. de Medicina, UB, IDIBAPS. <sup>b</sup>Hematología, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS. <sup>c</sup>Anatomía Patológica, Hospital Clínic de Barcelona, IDIBAPS.

**Introducción:** El LH es una neoplasia que se caracteriza por la escasa presencia de células tumorales de H/RS y de un abundante microambiente celular no tumoral. Los microRNAs (miRNAs), pequeñas moléculas de RNA de unos 20-25 nucleótidos, actúan uniéndose al RNA mensajero inhibiendo su traducción a proteína. En un trabajo previo detectamos un patrón de 25 miRNAs que era característico de LH. Algunos de los miRNAs que detectamos inhiben la expresión de genes clave en la linfomagénesis B.

**Objetivo:** Determinar si la diferenciación en la expresión de miRNAs de LH respecto a ganglios reactivos se debe a cambios genéticos en la célula neoplásica H/RS o a cambios en el microambiente no tumoral.

**Material y métodos:** Se usaron ribosondas LNA marcadas con fluoresceína 5' (FITC) para los miRNAs miR-21, 134, 138 y 155, sobre cortes de tejido incluido en parafina de 20 casos de ganglios afectados de LH. Se realizó la hibridación en el sistema automatizado Bond Max con adaptaciones para la hibridación de miRNAs. La incubación con la sonda se realizó durante 2 horas a 50° C. Para el revelado se usó un anticuerpo anti-FITC seguido de un anticuerpo anti-ratón unido a un gran número de sitios de peroxidasa. Se utilizó la hematoxilina como contratinción. Como control positivo de la hibridación se usó el miR-155.

**Resultados:** De los 25 miRNAs, seleccionamos 3 por su asociación con genes implicados directamente en la patogenia de LH: miR-21 (PTEN), miR-134 (J-CHAIN) y miR-138 (PU.1). Al hibridar con miR-155 identificamos una señal citoplasmática en las células de H/RS, en linfocitos reactivos y en algunos histiocitos activados. En cambio, los miRNAs miR-21, miR-134 y miR-138, se detectaron predominantemente en el citoplasma de las células de H/RS. Además, se identificó una señal débil nuclear en los linfocitos reactivos del microambiente para los miRNAs miR-21 y 138. Esta señal débil podría deberse a reactividad cruzada con el pri-miRNA (forma inmadura) de localización nuclear.

**Conclusiones:** Los miRNAs miR-21, miR-134 y miR-138 parecen tener un papel importante en la linfomagénesis del LH, ya que se expresan de forma selectiva en las células H/RS. El estudio de la localización de otros miRNAs del patrón específico del LH puede ayudar a clarificar los cambios que se producen tanto en la célula tumoral como en las células del microambiente celular reactivo en el LH.