

15. Detección de miRNAs en muestras de Glioblastoma incluidas en parafina. Pruebas de conceptos útiles en Patología Molecular

Daniela García-Ruiz¹, Carolina López-Uran^{1,2}, Juan C. Gallego-Gómez¹

INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Glioblastoma (GBM) es el tumor primario intracranial maligno más común en adultos (3,2/100.000 hab), una neoplasia agresiva con supervivencia media de 14.6 meses. Los criterios actuales de diagnóstico, selección del tratamiento y la estimación pronóstica son exclusivamente clínico-patológicos, lo que no es suficiente para una detección temprana ni para predecir aspectos del comportamiento biológico, como lo es la regresión tumoral, relacionadas con la alta tasa de crecimiento y heterogeneidad propia de la enfermedad.

Los microRNAs juegan un papel fundamental en la regulación de la expresión génica y su alteración se ha asociado a una serie de condiciones patológicas, incluyendo el cáncer. Por lo tanto, los miRNAs y su expresión diferencial pueden emplearse como biomarcadores novedosos y ser útiles para el diagnóstico, seguimiento de la progresión y respuesta al tratamiento. Los estudios de perfiles de expresión de microRNAs han ido en aumento para Glioblastoma, dejando en evidencia los más alterados en la patología y permitiendo mejorar la clasificación del mismo, igualmente, proporcionan información clave en la regulación de las vías de señalización involucradas.

OBJETIVO

Determinar la expresión de un perfil de microRNAs (miR-10b, miR-128, miR-144 y miR-34a) en muestras de Glioblastoma incluidas en parafina y su relación con variables histopatológicas y clínicas.

¹ Grupo de Medicina Molecular y de Traslación. Instituto de Investigaciones Médicas. Facultad de Medicina. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

² Departamento de Patología. Facultad de Medicina. Medellín, Colombia.

Correspondencia: Daniela García; daniela.garcia@udea.edu.co

Financiación: Convocatoria Pública CODI Estrategia para Apoyo a los Grupos de Investigación en Proceso de Consolidación 2016-2017

METODOLOGÍA

Se seleccionaron muestras de GBM que tuvieran bloque disponible en el departamento de patología y que adicional contaran con la historia clínica en el HUSVF, para un total de 18 muestras. Adicional, se seleccionaron 9 muestras no cancerosas por medio de autopsias y que compartan características similares a las muestras (edad, sexo y localización) funcionando como controles.

Se realizó la confirmación del diagnóstico en las muestras de GBM y se hizo la microdissección de la mejor área seleccionada por la neuropatóloga, se desparafinó la muestra, se extrajeron los small RNAs, se estandarizó la cantidad de microRNAs por medio de Qubit a 5ng, se realizó la retrotranscripción y la amplificaron los miRNAs: miR-128, miR-34a, miR-144 y miR-10b por medio de qPCR. Posteriormente, se halló su expresión diferencial en GBM y la posible relación con variables clínico-histopatológicas como: edad, género, localización, ki67 y meses de vida luego de diagnóstico.

RESULTADOS PARCIALES

Se encontró una diferencia significativa en la expresión del miR-128 ($p < 0.001$) y del miR-10b ($p < 0.001$) congruente con la literatura, miR-10b fue altamente sobreexpresado en GBM y se encontró una correlación positiva con Ki67, marcador de proliferación. Para el miR-128, se encontró una subexpresión como es reportado ya que participa como supresor tumoral en GBM.

CONCLUSIÓN

A partir de muestras incluidas en bloques de parafina, extracción de RNAs, enriquecimiento y purificación de los microRNAs, se obtuvo la detección, identificación y cuantificación molecular de miR-10b, miR-128, miR-144 y miR34a. Asimismo, mediante la Real Time PCR, junto con el estudio clínico e histopatológico, se evidenció la expresión diferencial de los miR-10b y miR-128 en GBM con respecto al control, reportados como importantes actores en la progresión de la patología. Igualmente, se encontró la expresión diferencial de estos miRNAs discriminados por sexo o localización, en donde solo fue significativa en algunos casos y dando a entender una posible relación con estas características en específico. La correlación de la expresión relativa de miRNAs con Ki67 fue significativa para el miR-10b, lo que puede sugerir que este miRNA participa en varios procesos biológicos, como lo es la proliferación, aspecto del que es ampliamente reportado.