



Angiología

www.elsevier.es/angiologia



ORIGINAL

Estudio de selección de microRNA como posibles biomarcadores de aneurisma de aorta abdominal

E. Plana^{a,b,*}, L. Gálvez^a, P. Medina^b, S. Navarro^b y M. Miralles^{a,b}

^a Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España

^b Grupo Acreditado de Investigación en Hemostasia, Trombosis, Arteriosclerosis y Biología Vascular, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, España

Recibido el 4 de septiembre de 2017; aceptado el 5 de septiembre de 2017

PALABRAS CLAVE

miR;
Aneurisma;
Biomarcadores

Resumen

Introducción: Los microRNA (miR) son RNA de pequeño tamaño involucrados en la regulación de numerosos procesos biológicos. Debido a su estabilidad y a su capacidad para detectarse en fluidos, se han convertido en objeto de estudio como posibles biomarcadores de diferentes patologías.

Objetivo: Seleccionar un número reducido de miR candidatos a ser biomarcadores de aneurisma de aorta abdominal (AAA).

Material y métodos: Se determinó la expresión de 179 miR en el plasma de 7 pacientes y 7 voluntarios sanos, mediante paneles prediseñados, basados en la tecnología de RT-qPCR.

Resultados: Hemos seleccionado 10 miR disregulados en pacientes como buenos candidatos para su estudio como biomarcadores debido a su implicación en diversos procesos biológicos relacionados con el desarrollo y evolución de AAA.

Conclusiones: Aunque son necesarios estudios adicionales y de validación, algunos de estos miR podrían ser biomarcadores no invasivos de AAA.

© 2017 SEACV. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

miRs;
Aneurysm;
Biomarkers

Screening of microRNAs as possible biomarkers in abdominal aortic aneurysm

Abstract

Introduction: MicroRNAs (miRs) are small RNA molecules that are involved in several biological processes. Due to their stability and their presence in biological fluids, several studies over the last few years have focused on the use of miRs as biomarkers of different pathologies.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: plana.emm@gva.es (E. Plana).

Objective: Selection of a group of miRs candidates to be validated as potential biomarkers of abdominal aortic aneurysm (AAA).

Material and methods: A total of 179 miRs were quantified in 7 patients with AAA and in 7 healthy donors, using predesigned panels based on RT-qPCR technology.

Results: A total of 10 miRs, dysregulated in patients, were selected as good candidates for studying them as biomarkers. It has been observed that most of these miRs participate in several biological processes related to the formation and development of AAAs.

Conclusion: Additional, as well as validation, studies are needed, but some of these miRs could be non-invasive AAA biomarkers.

© 2017 SEACV. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

El aneurisma de aorta abdominal (AAA) es una patología común y potencialmente letal. Los mecanismos moleculares que subyacen a dicha patología aún permanecen inciertos y, como consecuencia, en los últimos años múltiples estudios han ido encaminados a la investigación de nuevas moléculas relacionadas con la formación y progresión del AAA. Recientemente se ha relacionado una nueva clase de RNA de pequeño tamaño, conocidos como microRNA (miR), con diferentes patologías cardiovasculares¹.

Los miR constituyen un conjunto de pequeños RNA (19-24 nt) de cadena sencilla, endógenos, no codificantes y altamente conservados, que regulan la expresión génica al unirse, principalmente, a la región 3' UTR de un mRNA diana².

Estudios recientes han demostrado la utilidad de los miR presentes en plasma o suero como marcadores de diagnóstico y pronóstico de diversas patologías³. Tanto la facilidad de obtención de los fluidos como la estabilidad de estos miR circulantes los han convertido en objeto de interés, aunque su uso como biomarcadores también presenta ciertos inconvenientes. Por un lado, la baja concentración de este tipo de moléculas en fluidos dificulta su determinación y, por otro, debido a que los estudios con miR son relativamente recientes, todavía no existe un consenso claro sobre la metodología, la normalización de los resultados y la especificidad de estos.

Los trabajos publicados hasta la fecha sobre miR como biomarcadores de AAA son escasos y los resultados son poco reproducibles o contradictorios entre los distintos grupos. Por ello es necesario ampliar los estudios al respecto⁴.

Objetivo

En este estudio se pretende identificar un grupo de miR presentes en plasma que puedan ser potenciales biomarcadores de AAA en humanos.

Material y métodos

Diseño

Se trata de un estudio preliminar experimental caso control.

Pacientes

Se obtuvo sangre periférica de 7 pacientes con AAA (grupo AAA) que iban a ser sometidos a cirugía abierta o endoprótesis y de 7 voluntarios sanos (grupo control). En el grupo control se descartó la presencia de AAA mediante eco-doppler abdominal.

No se incluyeron pacientes con enfermedades graves sistémicas como cáncer, VIH o hepatitis c ni pacientes con AAA sindrómicos asociados a Marfan o Ehlers-Danlos.

El estudio contó con la aprobación del comité ético del Instituto de Investigación sanitaria La Fe y cumple con los principios de la declaración de Helsinki de 1975. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado correspondiente y aceptaron su participación en el estudio.

Métodos

De cada individuo, se recogieron 3 ml de sangre venosa en un tubo con 5,4 mg de K2EDTA como anticoagulante. Las muestras se procesaron durante las dos primeras horas desde la extracción. Los tubos se centrifugaron durante 30 min a 4 °C y 1.811 g y el plasma obtenido se distribuyó en alícuotas de 250 µl que se almacenaron a -80 °C hasta su utilización.

De cada alícuota, se extrajo el RNA total mediante el *miRNeasy mini-kit* (Qiagen, Alemania), que permite la extracción de RNA de pequeño tamaño. A partir de 5 µl de RNA se realizó la síntesis de cDNA empleando el kit *Universal cDNA synthesis kit*[®] (Exiqon, Dinamarca) que genera un único cDNA a partir del cual pueden cuantificarse múltiples miR mediante el empleo de cebadores específicos.

El estudio de expresión de miR se realizó por RT-qPCR mediante el empleo de paneles prediseñados *Serum/Plasma Focus miRNA PCR 384* pocillos (Exiqon, Dinamarca) siguiendo las indicaciones del fabricante. Los paneles contienen sondas para cuantificar 179 miR habitualmente presentes en suero y plasma, junto con varios miR candidatos a emplearse como miR de referencia, y 5 controles internos (*spike in*) que permiten evaluar la calidad de las distintas etapas de la cuantificación de expresión. Las reacciones de PCR y las lecturas de fluorescencia se realizaron en un termociclador Lightcycler 480 (Roche, Alemania).

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8652181>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8652181>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)