

COMPARACIÓN DE MICROARRAYS Y RQ-PCR EN EL ANÁLISIS DE EXPRESIÓN GÉNICA DE LA MACROGLOBULINEMIA DE WALDENSTRÖM

P. Martín-Jiménez, N.C. Gutiérrez, C. Chillón, M. Alcoceba, A. Balanzategui, M.E. Sarasquete, L. Marín, M. Vargas, R. García-Sanz, M. González, JF San. Miguel

Hospital Universitario de Salamanca

Introducción: El análisis de expresión génica es una metodología que está cobrando gran importancia en el estudio de la biología de las neoplasias hematológicas. En el caso de la Macroglobulinemia de Waldenström (MW) tiene especial interés por ser un trastorno linfoproliferativo poco común del que se desconocen muchos aspectos de su biología y ontogenia.

Objetivos: 1) Analizar el perfil de expresión génica de los linfocitos B de MW mediante arrays de expresión y compararlo con el perfil de expresión de linfocitos B normales (LBN) y de leucemia linfática crónica (LLC). 2) Explorar mediante RQ-PCR la expresión de los genes desregulados de manera más significativa en el estudio de microarrays en un grupo más amplio de pacientes para reproducir los resultados previos.

Material y métodos: Se analizaron un total de 60 muestras. En todos los casos se separaron los linfocitos B mediante citometría de flujo y separación celular (FACSarea[®]). 27 muestras procedían de pacientes con MW (10 estudiadas por arrays y 17 por RQ-PCR), 18 con LLC (arrays: 11 y RQ-PCR: 7) y 15 de LBN (arrays: 9 y RQ-PCR: 6). Para el análisis de arrays se emplearon 100ng de RNA amplificado y marcado con la metodología de Affymetrix (Santa Clara, CA) que luego se hibridó frente al microarray "Human Genome U133A". En el análisis de RQ-PCR se emplearon ensayos de expresión (Human TaqMan[®] Gene Expression Assays, Applied Biosystems, Foster City, CA). En cada muestra se analizó por duplicado el gen de interés y el gen control (*ABL*) cuya expresión sirvió para normalizar la de cada uno de los genes mediante el método del Incremento del Ct ($\Delta\Delta Ct$).

Resultados: Los microarrays mostraron diferencias en la expresión de ciertos genes en la MW frente a la observada en la LLC y/o LBN, algunos de ellos implicados en importantes funciones biológicas. Se observó sobreexpresión de los genes *IL10RA*, *IL6*, *HCK* y *BATF*, e infraexpresión de *BACH2* en la MW. El gen *IL10RA* parece implicado en la expansión de células B malignas, y los genes *IL6*, *HCK* y *BATF* están involucrados en supervivencia, proliferación y diferenciación celular. Además, *BACH2* participa en el proceso de cambio de isotipo.

El análisis con RQ-PCR confirmó los resultados obtenidos con microarrays: se encontraron diferencias significativas para los genes *IL6*, *HCK*, *BATF* que aparecieron sobreexpresados en MW frente a LLC y *BACH2* que apareció infraexpresado en la MW. Por otra parte, los genes *IL10RA*, *HCK*, *BATF* estaban significativamente sobreexpresados en la MW respecto a los LBN.

Conclusión: 1) El análisis mediante RQ-PCR confirmó los resultados obtenidos en los microarrays, demostrando la fiabilidad y reproducibilidad de las metodologías. 2) Estos datos sugieren que la expresión de los genes *IL10RA*, *IL6*, *HCK*, *BATF* y *BACH2*, podría tener un papel biológico en el desarrollo de la MW.