

EVALUACIÓN DEL IMPACTO DE DIFERENTES MÉTODOS DE CONSERVACIÓN Y RECOLECCIÓN DE MUESTRAS SOBRE LA CALIDAD DE RNA PROCEDENTE DE TEJIDO PULMONAR: IMPLANTACIÓN EN LA PT. BIOBANCO PULMONAR CIBERESEsteva-Socias M^{1,2,3}, Sánchez-Navarro AL^{1,2,3}, Campaner MA^{1,2,3}, Gómez-Romano F^{1,2,3} y Villena C^{1,2,3} en nombre de la Pt. Biobanco Pulmonar.¹ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES), Instituto de Salud Carlos III, Madrid.

Respiratorias, Institut d'Investigació Sanitària de les Illes Balears (IdISBa), Palma de Mallorca.

² Grupo de Inflamación, Reparación y Cáncer en Enfermedades³ Plataforma Red Nacional de Biobancos -ISCIII**ANTECEDENTES**

Las variables pre-analíticas y el manejo de muestras biológicas pueden influir en la calidad de las mismas y en los

resultados obtenidos en investigación. En la actualidad, existe mucha controversia y pocos datos del real impacto en la integridad de los tejidos

según los diferentes protocolos de almacenamiento y la procedencia de muestras (autopsia, donante de órganos (DO), cirugía convencional (CC)...).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se analizaron un total de 24 muestras de tejido pulmonar procedente de donantes de órganos (DO) y de pacientes

intervenidos por cirugía (CC) (Tabla 1). Se evaluó la integridad y funcionalidad del RNA por PCR end-point y RT-qPCR, respectivamente, amplificando 7

fragmentos de diferente longitud del gen HPRT1 (Figura 1).

Origen	Edad*	Hábito Tabáquico		Patología Resp.	Enf. Cardiovasc	Cáncer	TIF (min)*	TIC (min)*
		No fumador	Exfumador					
DO	68,25± 9,56	4	0	No	3	NA**	14,75 ±5,3	119,67 ±89,2
CC	58,25± 21,8	1	3	No	2	3	17,25 ±5,5	19,67 ±16,7

Tabla 1. Características de las muestras de estudio. *ME± DE, ** No aplica.

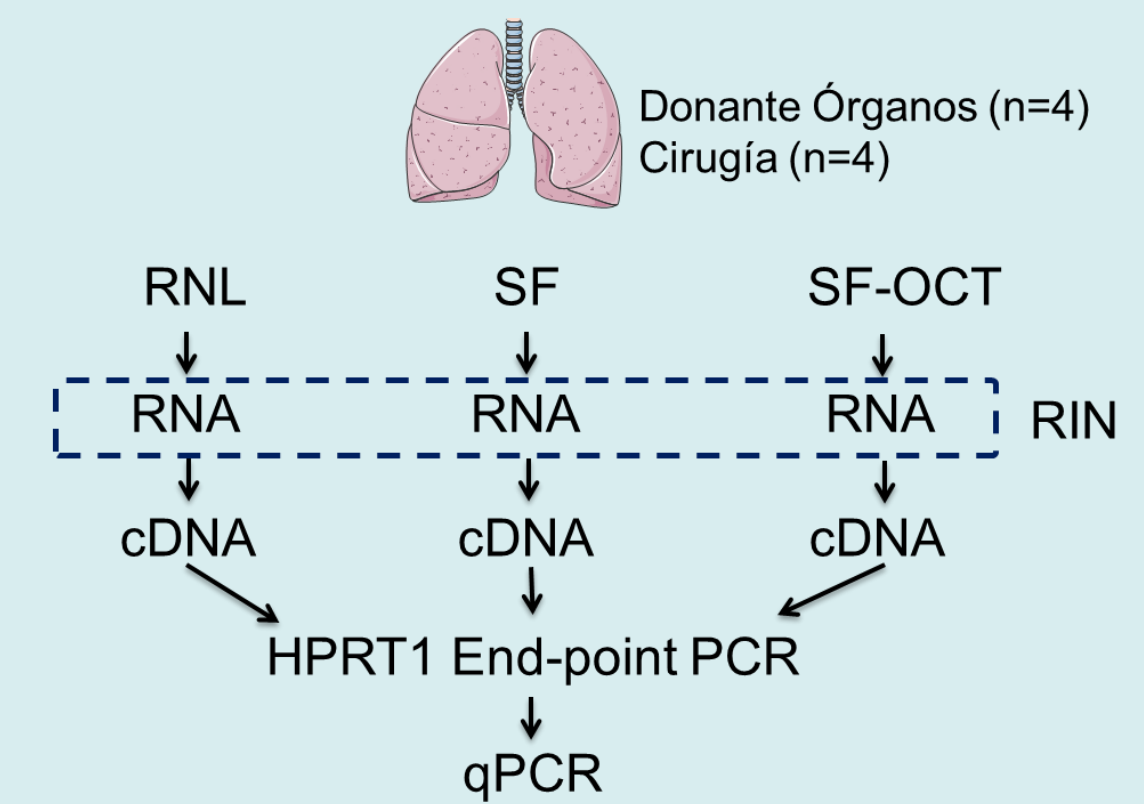


Figura 1. Diseño experimental.

RESULTADOS**1. ANÁLISIS INTEGRIDAD Y FUNCIONALIDAD DE RNA POR TÉCNICAS DE PCR**

Se realizó RT-qPCR de 7 fragmentos de diferente tamaño del gen HPRT1 para evaluar el rendimiento del RNA extraído (Figura 2). Los valores obtenidos fueron mayores para RNA procedente de tejido congelado, indicando peor rendimiento en comparación a RNA Later y OCT. Se observa una influencia directa de los protocolos de conservación sobre los resultados obtenidos en RT-qPCR, siendo estas diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$) (Figura 3).

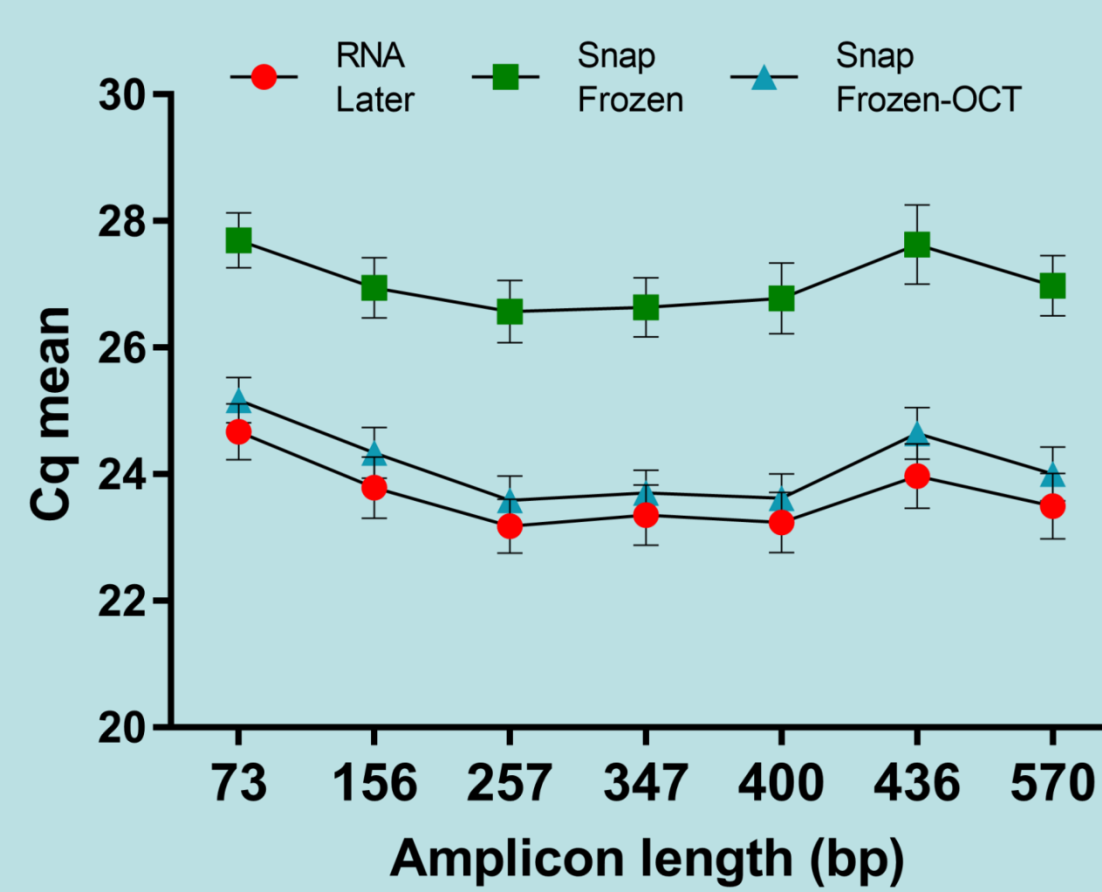


Figura 2. Ensayo para la evaluación del rendimiento del RNA mediante qPCR.

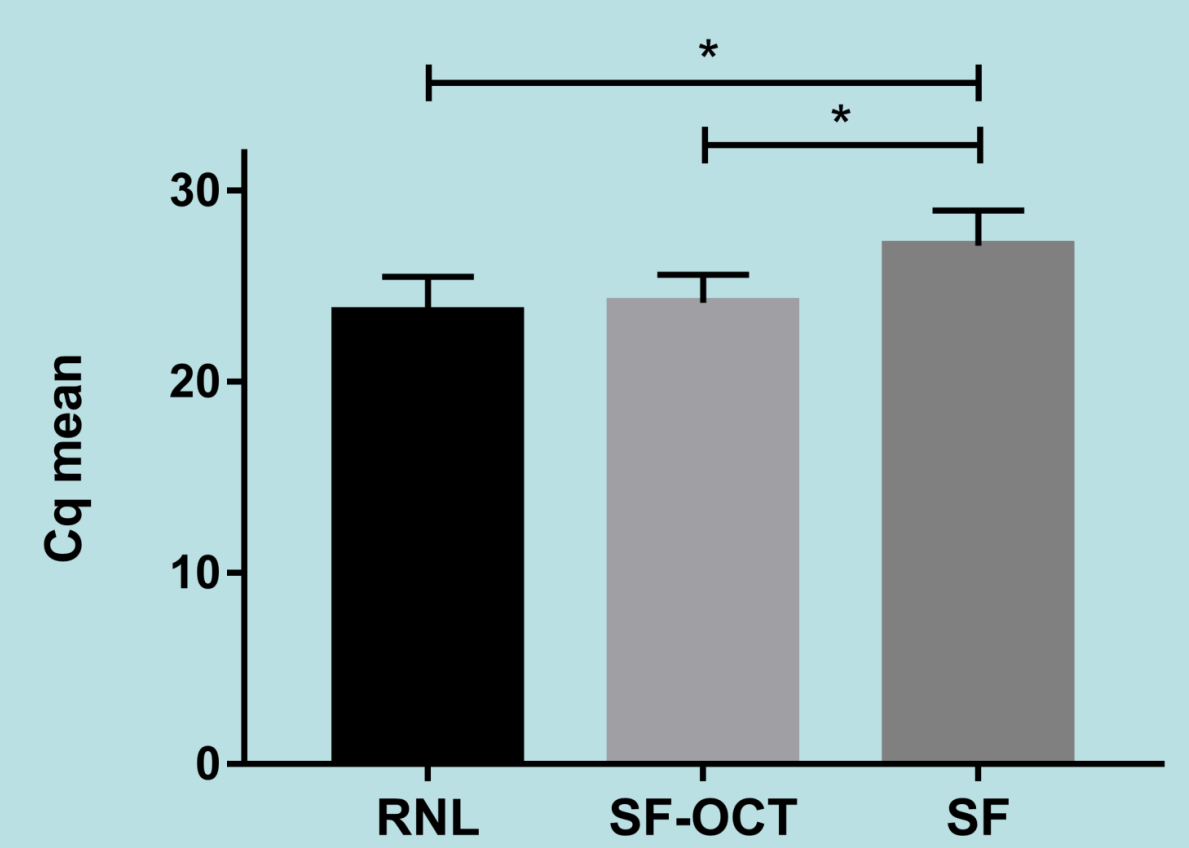
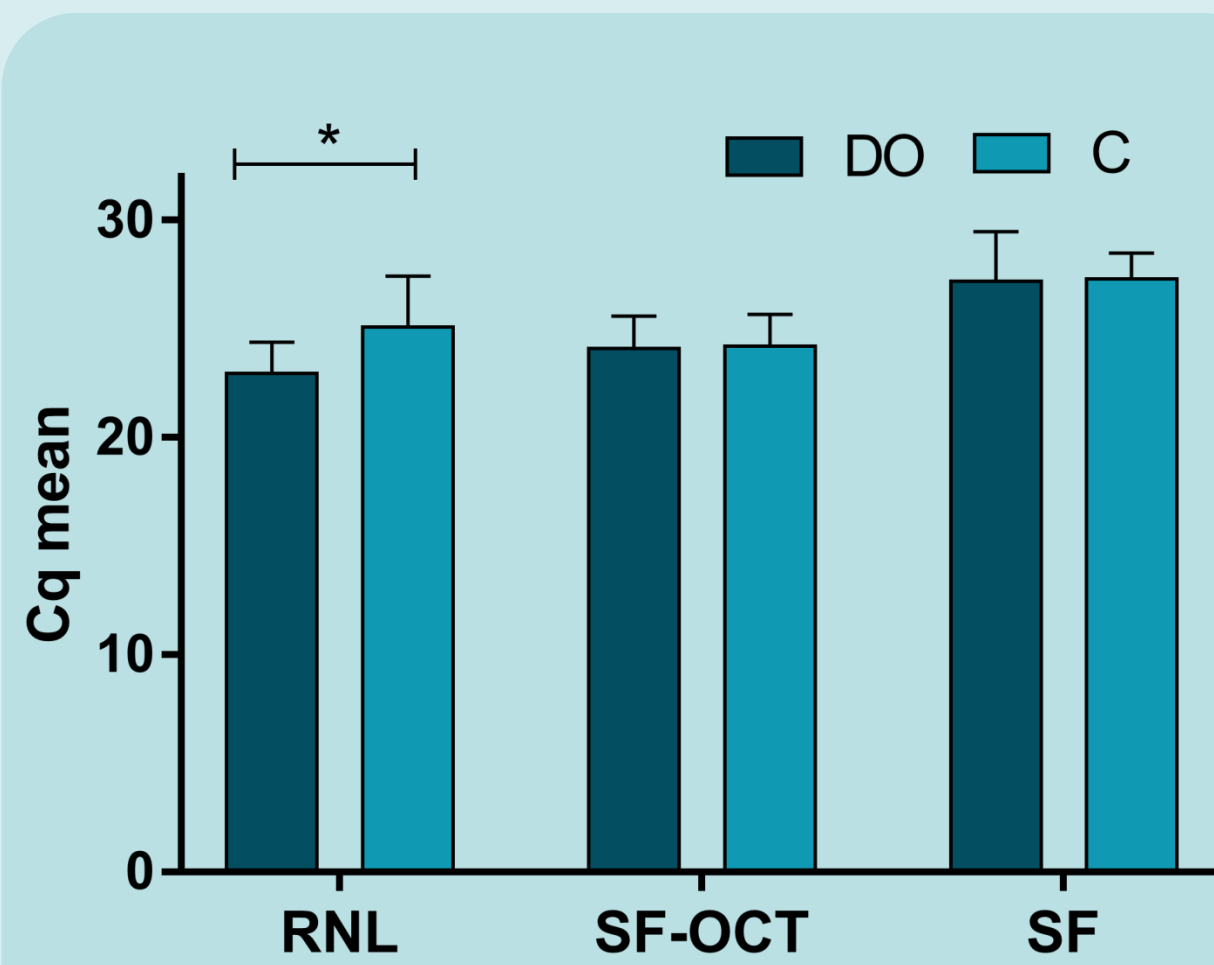


Figura 3. Valores Cq obtenidos para los diferentes protocolos de conservación.



No se observó influencia estadísticamente significativa de la variable "procedencia de la muestra" sobre la funcionalidad del RNA a excepción de muestras conservadas en RNA Later ($p < 0,0001$).

2. RNA INTEGRITY NUMBER

Se obtuvieron valores más altos de RIN en muestras de RNL y SF-OCT, siendo estadísticamente diferente a los datos obtenidos en muestras SF ($p < 0,001$) (Figura 5A-B).

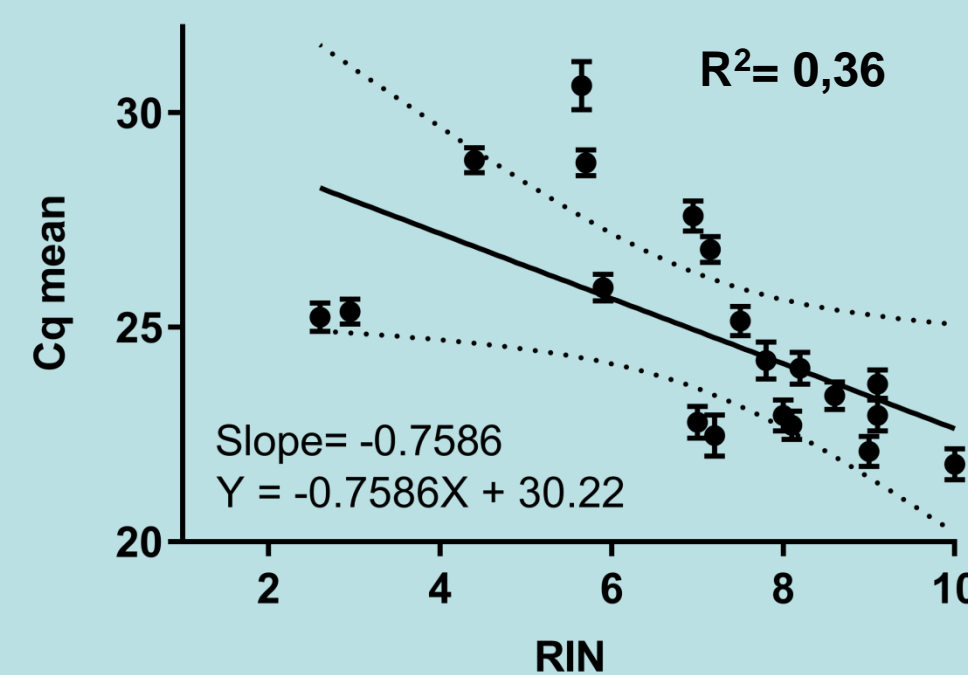
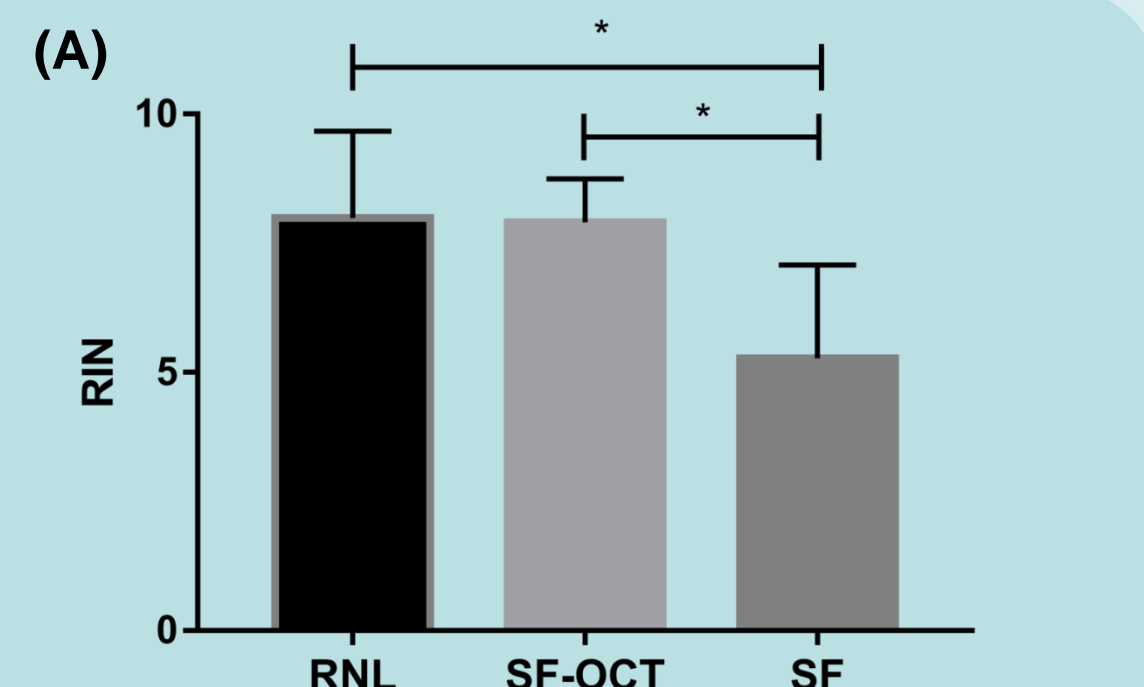


Figura 4. Comparación de los valores de RIN y valores Cq del total de muestras analizadas.



	RIN (media)	SD	n	RIN mín.	RIN máx.
SF	5,27	1,81	7	2,6	7,15
RNL	7,99	1,68	8	4,4	10
SF-OCT	7,90	0,84	6	7	9,1

Figura 5. Valores RIN obtenidos para tejido pulmonar en función del protocolo de almacenamiento.

CONCLUSIONES

Por medio de las técnicas de RT-qPCR y RIN, se ha observado una correlación

positiva entre la variable "protocolo de almacenamiento" y la calidad del RNA. No se ha observado ningún tipo de

correlación cuando se ha estudiado la procedencia de las muestras.