

PAPEL DEL miR-7641 EN LA VASCULOPATÍA HIALINIZANTE PERITONEAL EN PACIENTES TRATADOS CON DIÁLISIS PERITONEAL

Raquel Díaz-Mancebo (1), Gloria del Peso (2), Pilar Sandoval (3), José Antonio Jiménez-Heffernan (4), Raúl Rodrigues (5), Marta Ruiz-Ortega (5), Marta Ossorio (2), Rafael Selgas (6), M^a Auxiliadora Bajo (2),
1. Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Infanta Sofía – San Sebastián de los Reyes. Madrid.
2. Servicio de Nefrología. Hospital Universitario La Paz. Instituto de Investigación (IdiPAZ). Red de Investigación Renal (REDINREN). Grupo de estudios peritoneales de Madrid. Madrid.
3. Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. Madrid.
4. Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitario La Princesa. Instituto de Investigación Sanitaria (IIS-IP). Madrid.
5. Laboratorio de Biología Celular en Patología Renal. Universidad Autónoma de Madrid (UAM). Red de Investigación Renal (REDINREN). Madrid.
6. Instituto de Investigación Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ). Madrid. Red de Investigación Renal (REDINREN).

INTRODUCCIÓN

Los micro-RNA (miRNAs) son pequeños RNA que no codifican para proteínas. Regulan la expresión génica a nivel postranscripcional, fundamentalmente inhibiéndola. Su importancia se ha demostrado en múltiples procesos, como diabetes, cáncer, enfermedades cardiovasculares, renales y fibrosis peritoneal.

La vasculopatía hialinizante peritoneal (VHP) es una lesión observada en pacientes en diálisis peritoneal (DP) caracterizada por reduplicación de la membrana basal, que conduce a una obliteración progresiva de la luz del vaso. Detrás de esta lesión se encuentra el fenómeno de transición endotelio-mesenquimal (TEndM).

El miR-7641 es un miRNA que está poco investigado, se expresa predominantemente en líneas celulares de cáncer de mama y colon y se ha propuesto como un factor prometedor para su tratamiento debido a su capacidad para regular las proteínas ribosómicas. En la misma línea, un estudio sobre miR-7641 describe su papel durante la diferenciación endotelial de las células madre embrionarias.

OBJETIVO PRINCIPAL

Caracterizar el proceso de TEndM a nivel molecular (mediadores, genes y miRNAs) en la VHP.

MATERIAL Y MÉTODOS

Análisis completo de perfiles de secuenciación de miRNAs en biopsias peritoneales de pacientes adultos en DP con y sin VHP. Las biopsias peritoneales provenían de un biobanco de biopsias del Hospital Universitario La Paz, Madrid y del Centro Universitario de Educación Médica e Investigaciones Clínicas (CEMIC), Argentina.

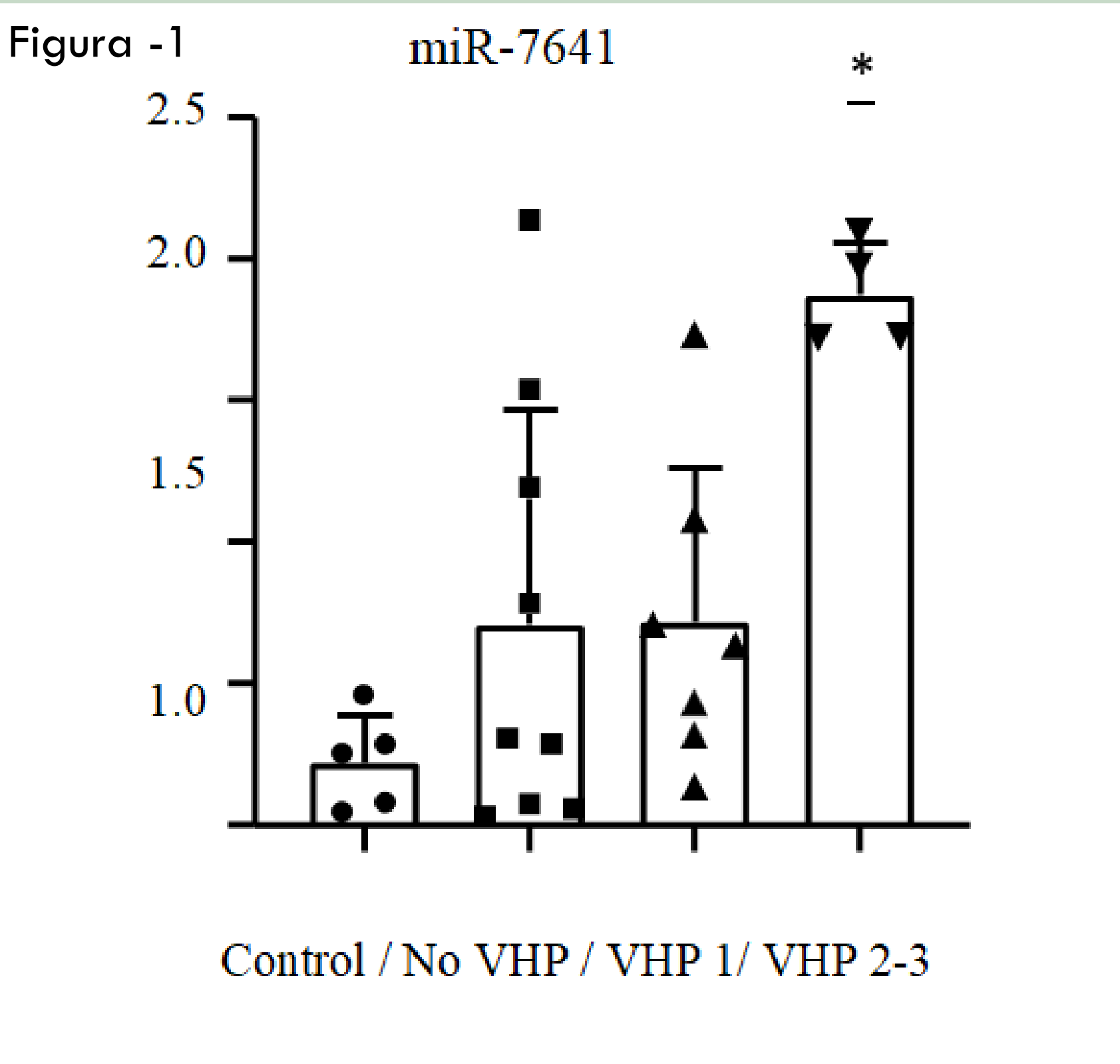
Los miRNA de las muestras embebidas en parafina se extrajeron usando un kit comercial (kit RNeasy FFPE, Qiagen). Los ARN obtenidos se cuantificaron utilizando la determinación fluorescente basada en RiboGreen® y se analizaron en Bioanalyzer (Agilent). La preparación de la biblioteca y secuenciación de Illumina incluyó 19 muestras; 11 vasculopatías, 8 controles. Las bibliotecas se prepararon de acuerdo con las instrucciones del kit "NEBNext Multiplex Small RNA Library Prep Set for Illumina" de New England Biolabs. Posteriormente se realizó una validación de miRNAs por PCR cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR).

RESULTADOS

Encontramos un total de 24 miRNAs significativamente disregulados en muestras peritoneales con VHP en comparación con pacientes sin VHP (tabla 1). Sin embargo, la baja cantidad de ARN extraída de las biopsias fijadas en parafina, así como la baja celularidad que caracterizan las muestras peritoneales, sólo nos permitieron confirmar una regulación positiva (promotor) significativa de miR-7641 por RT-qPCR en las biopsias que muestran VHP (figura 1).

Tabla -1

Identificación región	Objetivo previsto	Chr	Región inicio	Región final	Log2	Valor P	Valor q
hsa-miR-1185-1-3p	2269	chr14	101042976	101043062	3.05	7.55 × 10 ⁻³	4.15 × 10 ⁻²
hsa-miR-1193	no	chr14	101030051	101030129	-inf	5.00 × 10 ⁻⁴	5.10 × 10 ⁻³
hsa-miR-1246	no	chr2	176600979	176601052	-1.64	7.50 × 10 ⁻⁴	7.07 × 10 ⁻³
hsa-miR-1299	5405	chr9	40929009	40929092	-1.49	8.25 × 10 ⁻³	4.43 × 10 ⁻²
hsa-miR-154-3p	83	chr14	101059754	101059838	2.47	5.00 × 10 ⁻⁵	7.77 × 10 ⁻⁴
hsa-miR-154-5p	165	chr14	101059754	101059838	2.47	5.00 × 10 ⁻⁵	7.77 × 10 ⁻⁴
hsa-miR-200a-3p	110	chr1	1167862	1167952	2.13	2.45 × 10 ⁻³	1.82 × 10 ⁻²
hsa-miR-323b-5p	998	chr14	101056218	101056300	4.24	1.50 × 10 ⁻⁴	1.91 × 10 ⁻³
hsa-miR-34a-5p	319	chr11	111513438	111513515	1.70	0.0072	4.03 × 10 ⁻²
hsa-miR-34c-5p	319	chr11	111513438	111513515	1.70	7.20 × 10 ⁻³	4.03 × 10 ⁻²
hsa-miR-369-5p	294	chr14	101065597	1010656,67	2.35	6.50 × 10 ⁻³	3.78 × 10 ⁻²
hsa-miR-376a-2-5p	no	chr14	101040068	101040148	-inf	5.00 × 10 ⁻⁵	7.77 × 10 ⁻⁴
hsa-miR-377-3p	635	chr14	101062049	101062118	3.20	5.00 × 10 ⁻⁵	7.77 × 10 ⁻⁴
hsa-miR-383-5p.1	235	chr8	14853437	14853510	-2.50	6.45 × 10 ⁻³	3.76 × 10 ⁻²
hsa-miR-383-5p.2	223	chr8	14853437	14853510	-2.50	6.45 × 10 ⁻³	3.76 × 10 ⁻²
hsa-miR-412-3p	2888	chr14	101065446	101065537	2.70	6.50 × 10 ⁻³	3.78 × 10 ⁻²
hsa-miR-494-5p	712	chr14	101029633	101029714	4.03	5.00 × 10 ⁻⁵	7.77 × 10 ⁻⁴
hsa-miR-542-5p	1047	chrX	134541340	134541437	3.21	5.00 × 10 ⁻⁵	7.77 × 10 ⁻⁴
hsa-miR-548ad-3p	1717	chr2	35471404	35471486	-inf	8.70 × 10 ⁻³	4.60 × 10 ⁻²
hsa-miR-6507-3p	no	chr10	98924498	98924568	-inf	5.00 × 10 ⁻⁵	7.77 × 10 ⁻⁴
hsa-miR-6507-5p	no	chr10	98924498	98924568	-inf	5.00 × 10 ⁻⁵	7.77 × 10 ⁻⁴
hsa-miR-651-5p	3719	chrX	8126964	8127061	2.12	8.30 × 10 ⁻³	4.44 × 10 ⁻²
hsa-miR-7641	no	chr11	10425259	104252651	1.60	5.55 × 10 ⁻³	3.37 × 10 ⁻²
hsa-miR-873-3p	4301	chr9	28888878	28888955	-2.58	7.50 × 10 ⁻⁴	7.07 × 10 ⁻³



CONCLUSIONES

El presente estudio sugiere un potencial papel de miR-7641 en la diferenciación de células endoteliales durante el proceso de transición endotelio-mesenquimal asociado a la vasculopatía hialinizante peritoneal.