

ESTUDO PILOTO: VALIDAÇÃO DO CONTROLE ENDÓGENO RNU6B EM AMOSTRAS DE PLASMA E SALIVA

Bárbara Alemar Beserra, Patrícia Lisbôa Izetti Ribeiro, Cleandra Gregorio Silva, Alessandro Bersch Osvaldt, Patricia Ashton Prolla

Introdução: MicroRNAs são pequenos RNAs não codificantes envolvidos na regulação de diversas vias de sinalização celular. A quantificação dos níveis de miRNA é essencial na compreensão dos seus mecanismos de atuação, sendo uma promissora ferramenta na identificação de biomarcadores. O padrão-ouro para quantificação de miRNA é a qRT-PCR, mas diversos fatores podem gerar erros na quantificação. A normalização por controles endógenos (CE) é o método mais preciso para corrigir estes erros, e sua escolha é importante para a validação dos resultados. Não há, porém, nenhum CE universal para todos tecidos, sendo necessária a validação do CE que melhor se adeque ao estudo. **Objetivos.** Considerando a escassez de informações sobre o uso de controles endógenos para expressão de miRNAs em amostras de plasma e saliva, este estudo busca a validação do snoRNA (small nucleolar RNA) RNU6B como CE nestas amostras, tendo em vista sua considerável performance como controle endógeno em amostras de tecido. **Materiais e métodos.** Neste estudo piloto, analisamos 6 amostras de plasma, 6 de saliva, 4 de tecido tumoral pancreático e 4 de tecido pancreático saudável, todas em duplicata. As amostras foram coletadas de pacientes da Cirurgia Digestiva do HCPA, devidamente consentidos através do TCLE aprovado no projeto GPPG 10.0162. O RNA foi extraído pelo kit mirVana PARIS e as reações de transcrição reversa e qRT-PCR foram realizadas através de ensaios TaqMan, em um equipamento StepOne. **Resultados e conclusões.** As amostras de tecido testadas apresentaram níveis de expressão altos e constantes. No entanto, nosso estudo não mostrou abundância nem estabilidade considerável do alvo (Ct variando de 25 a 33.4) em amostra de plasma e saliva. A validação final requer a análise de um número maior de amostras.