

Título: PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DE MICRODISSECÇÃO E CAPTURA A LASER (LCM) EM TUMORES PROSTÁTICOS

Autores: Caetana Machado Ledur¹, Lolita Schneider Pizzolato¹, Lúcia Kliemann¹, Brasil Silva Neto², Ilma Simoni Brum¹

Instituição: ¹Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre – RS, ²Serviço de urologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre – Porto Alegre – RS

Resumo: O isolamento de células puras de tecidos a partir de cortes histológicos é possível através da técnica de microdissecção e captura laser (LCM). Essa técnica auxilia o isolamento de células específicas, permitindo uma análise precisa da amostra de interesse. Para o isolamento das células, a amostra é cortada no criostato para a confecção de lâminas, que após serem coradas com hematoxilina e eosina são acopladas ao microdissector, e então, o material desejado pode ser isolado. Padronizar a técnica de LCM em amostras de tecido tumoral prostático para o isolamento das células epiteliais de Hiperplasia Prostática Benigna e Câncer de Próstata. Diferentes etapas do protocolo foram testadas como a coleta das amostras em RNA later® ou em nitrogênio líquido, o armazenamento das lâminas a temperatura ambiente ou gelo seco, as técnicas para a extração do RNA a partir do reagente Trizol® ou do kit RNAquous® e a espessura do corte do material de 8µm ou 11µm. Nas amostras coletadas em RNA later® e extraído em Trizol® foi possível obter 7,06 ng/µl de RNA, mas o RNA estava contaminado com resíduos da extração e degradado, possivelmente pelo longo tempo de confecção das lâminas e pelo armazenamento em temperatura ambiente. Com o mesmo tipo de coleta e extração de RNA com o Kit RNAquous®, foi possível obter 5,8 ng/µl, o RNA novamente se apresentava degradado, o que foi minimizado ao armazenar as lâminas em gelo seco até a microdissecção. Com as amostras coletadas em nitrogênio líquido a confecção das lâminas para microdissecção foi mais rápida, pois o congelamento em nitrogênio permitiu um corte mais preciso e eficaz, diminuindo o tempo de exposição do material e favorecendo a obtenção de 7,2 ng/µl de RNA de boa qualidade e maior quantidade. Ao testar a espessura do corte verificamos que 8µm foi a mais adequada para conseguir o corte efetivo pelo microdissector. O melhor protocolo estabelecido foi: coletar as amostras em nitrogênio líquido, realizar cortes de 8 µm, armazenar as lâminas em gelo seco, por até duas horas, de forma a minimizar o tempo de exposição do material e utilizar o kit RNAquous®, o que favorece a extração de RNA com maior qualidade.

Palavras-chaves: Microdissecção, Câncer de próstata, Padronização.

Agência Fomento: FIPE (HCPA), CNPq.