



Detecting gene expression in buccal mucosa in subjects with asthma versus subjects without asthma

Año	Revista	FI	Tema	Autores	Volumen/Páginas
2013	Pediatric Allergy and Immunology	3,376	Tratamiento del asma en niño	Vyhldal CA, Riffel AK, Dai H, Rosenwasser LJ, Jones BL	March 2013; 24(2): 138-43

Texto en inglés

Background: differences in mRNA expression for inflammatory markers have been observed between subjects with asthma vs. controls and in relation to corticosteroid response. However, these studies utilized methods (e.g., bronchoscopy) that are too invasive to be used routinely in children and in the clinic. The primary purpose of this study was to determine the feasibility of obtaining RNA of adequate quantity and quality from buccal mucosa of children and adults for gene expression studies. Secondly, this study aimed to determine whether gene expression patterns in buccal mucosa are similar to those that have been observed in respiratory epithelium.

Methods: we enrolled 94 subjects with and without asthma between 5 and 54 years of age. Relative gene expression in buccal mucosa was determined with quantitative RT-PCR for the following genes: *CCL2*, *EDN1*, *FKBP5*, *IL8*, *IFNAR2*, *NFKB1*, *RELA*, *SERPINB2*, *DENND1B*, *HRH1*, *ICAM1*, *ORMDL3*, *NR3C1*, *CLCA1*, *CRHR1*, *MUC5B*, *FCER2*, *POSTN*, *GAPDH*, *PPIA*.

Results: mRNA Expression of the following genes was detected in buccal mucosa: *CCL2*, *EDN1*, *FKBP5*, *IL8*, *IFNAR2*, *NFKB1*, *RELA*, *SERPINB2*, *DENND1B*, *HRH1*, *ICAM1*, *ORMDL3*, *NR3C1*, *GAPDH*, *PPIA*. *HRH1* was differentially expressed in adults with asthma vs. controls ($p = 0.04$), and *EDN1* was differentially expressed in children with asthma vs. controls 12–18 years old ($p = 0.03$). A similar trend for *HRH1* was observed in children 12–18 years old.

Conclusions: buccal mucosa sampling is a reliable method for detecting changes in gene expression in patients with asthma. This non-invasive technique may serve as a valuable tool for diagnosing asthma and evaluating therapeutic response.

Detectar la expresión genética en mucosa bucal en sujetos con asma frente a sujetos sin asma

Diferencias en la expresión de mensajero ARN (ARNm) para marcadores inflamatorios han sido observadas entre sujetos con asma frente a controles y en relación con la respuesta a los corticosteroides. Sin embargo, estos estudios utilizaron métodos (por ejemplo, la broncoscopia) que fueron demasiado invasivos para su uso rutinario en niños y en la clínica. El objetivo primario

de este estudio fue determinar la fiabilidad de obtener ARN en cantidad y calidad adecuada desde la mucosa bucal de niños y adultos para estudios de expresión genética. Secundariamente, este estudió si los patrones de expresión genética en la mucosa bucal son similares de aquellos observados en el epitelio respiratorio.

Método: fueron incluidos 94 personas con y sin asma de edades entre 5 y 54 años. La expresión genética en mucosa bucal fue determinada con la técnica reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (PCR-RT) cuantitativa para los siguientes genes CCL2, EDN1, FKBP5, IL8, IFNAR2, NFKB1, RELA, SERPINB2, DENND1B, HRH1, ICAM1, ORM DL3, NR3C1, CLCA1, CRHR1, MUC5B, FCER2, POSTN, GAPDH, PPIA.

Resultados: fue detectado en mucosa bucal la expresión ARNm de los siguientes genes: EDN1, FKBP5, IL8, IFNAR2, NFKB1, RELA, SERPINB2, DENND1B, HRH1, ICAM1, ORM DL3, NR3C1, GAPDH, PPIA. HRH1 fue expresado de forma diferentes en adultos con asma frente a los controles ($p = 0,04$) y EDN1 fue expresada de forma diferente en niños con asma frente a controles en edades entre 12 y 18 años ($p = 0,03$). La tendencia fue similar para HRH1 en niños entre 12 y 18 años de edad.

Conclusiones: la muestra de mucosa bucal es un método fiable para detectar cambios en la expresión genética en pacientes con asma. Esta técnica no invasiva puede servir como una herramienta valiosa para el diagnóstico de asma y evaluar respuestas terapéuticas.

Comentario del autor (Dr. José Sanz)

Los *microarrays* han sido utilizados para la identificación del perfil de expresión genética en el epitelio de las vías respiratorias de pacientes con asma; los estudios han sido limitados a los adultos ya que precisan obtener la muestra de la utilización de la broncoscopia. Recientes estudios han aislado el ARN desde las células de la mucosa bucal para estudiar la expresión genética que identifique marcadores de susceptibilidad de padecer enfermedades, gravedad y fenotipos, y eficacia del fármaco. Se ha observado que cambios en la expresión genética de tejidos bronquiales son reflejados por cambios en la expresión genética en la mucosa bucal y del epitelio nasal.

Este estudio tiene por objetivo investigar la posibilidad de usar extractos de ARN de células de mucosa bucal como fuente de biomarcadores de expresión genética en niños y adultos valorando la expresión de ARNm de genes asociados con asma. Se trata de una técnica no invasiva de tejido que puede ser utilizado para el diagnóstico de asma y predecir respuestas terapéuticas. Se utilizaron adultos sin asma y con asma en el nivel 2 o 3 de la terapia de mantenimiento. Igualmente, se seleccionaron niños sin asma y con asma entre el nivel 1 y nivel 2-3 de terapia de mantenimiento. Las muestras fueron obtenidas tras raspar el interior de cada mejilla con cepillos de dientes de cerdas y posteriormente inmersas con un protector de saliva a temperatura de 4º previa a la extracción de ARN.

Se han investigado los niveles de ARN de 18 genes que se han asociado con asma y/o respuesta al tratamiento. Los hallazgos son importantes, sobre todo en niños, donde se obtienen medidas objetivas de deterioro y riesgo de asma. Los datos de este estudio sugieren diferencias sistemáticas en la colección y/o estabilidad del ARN de la mucosa bucal de cohortes de niños jóvenes.

El objetivo del estudio fue determinar la fiabilidad usando ARN desde la mucosa bucal para

medir la expresión de genes, y no fue diseñado inicialmente para detectar diferencias en la expresión de ARNm entre sujetos con asma y sin asma, diferencias que fueron observadas. La expresión ARNm del HRH1 fue significativamente mayor en adultos con asma y esa tendencia también fue observada en niños de 12 a 18 años de edad. HRH1 codifica el receptor de histamina H1 que media en la liberación de histamina de los mastocitos y otras células inflamatorias. También se observaron niveles más altos de ARNm IL8 (potente citoquina inflamatoria) en varones en relación con las mujeres, donde diferencias genéticas en la codificación genética de IL8 se han asociado con asma.

Como conclusiones, este estudio demuestra la posibilidad de caracterizar el ARN de células de mucosa bucal para investigar la expresión de ARNm de genes asociados con asma en adultos y niños. Se necesitan estudios para optimizar la recogida de la muestra y métodos de estabilización para mejorar el rendimiento y la calidad del ARN. Futuros estudios son necesarios para diseñar de forma específica la evaluación de las diferencias de expresión genética entre los pacientes con y sin asma.