

COMPARAÇÃO DE DOIS MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA DE TECIDO HEPÁTICO FIXADO E EMBLOCADO PARA PESQUISA DO H. PYLORI EM PACIENTES COM CARCINOMA HEPATOCELULAR.

Elizabeth Maria Afonso Rabelo Goncalves¹

Natalícia Hifumi Hara

Cecília Amélia Fazzio Escanhoela

Jazon Romilson De Souza Almeida

Ilka De Fatima Santana F. Boin

José Murilo Robilotta Zeitune

UNICAMP

Resumo

Os tecidos parafinados têm sido frequentemente utilizados nos estudos moleculares. Entretanto, a extração de DNA destes tecidos é desafiadora, pois a fixação em formol pode danificar o DNA e impedir sua amplificação pela PCR. Considerando que vários estudos relatam a presença do DNA do H. pylori no fígado de pacientes com carcinoma hepatocelular (CHC), o objetivo do estudo foi comparar dois métodos de extração de DNA para detecção desta bactéria em tecido hepático parafinado de pacientes com CHC. Foram utilizados 10 blocos de tecido hepático parafinado. Após a desparafinização, foi realizada a extração pelo método do fenol/clorofórmio (M1) em 10 tubos de amostras; outros 10 tubos foram submetido à extração com o kit QIAamp FFPE Tissue Kit (Qiagen) (M2). Em seguida, foram verificadas a quantidade e a pureza do DNA (razão A260/280) por espectrofotometria. A detecção do H. pylori foi realizada pela PCR do gene 16S rRNA. A quantidade média de DNA obtida foi 525,26 ng/μl pelo M1 e 78,37 ng/μl pelo M2 (P=0,009), sendo o valor médio da razão A260/A280 = 1,95 e 1,85 respectivamente (P< 0,001). Com relação à detecção do H. pylori, não foram observadas diferenças significantes entre os dois métodos. Com relação à quantidade de DNA, o método fenol/clorofórmio pode ser considerado mais eficiente. Entretanto, os dois métodos podem ser utilizados com sucesso na extração de DNA de tecido hepático fixado e emblocado.

Palavras-chaves

DNA. Tecido parafinado. Fígado. PCR. H. Pylori

¹ E-mail: elizabethgoncalves@gmail.com

IV SIMTEC — Centros de convenções — UNICAMP, Campinas, SP – 6 a 7 de novembro de 2012.
Tema central: “Conhecimento e experiência : reconhecendo fronteiras e construindo pontes”.