



Universidad
de Navarra

Análisis mediante dHPLC de la familia III de las RTKs en neoplasias mieloproliferativas crónicas *BCR-ABL1* negativas

C. Ormazábal, C. Hurtado, P. Aranaz, I. Erquiaga, M. García-Delgado, F. J. Novo, M. J. Calasanz, J. L. Vizmanos

Departamento de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Navarra. Pamplona, Navarra

Introducción

Las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPC) *BCR-ABL1* negativas constituyen un grupo de leucemias caracterizadas por la proliferación clonal excesiva de uno o más linajes de la línea mieloide y por la ausencia del transcrito de fusión *BCR-ABL1*. Su etiología molecular se conoce sólo en parte, y hasta la fecha se han descrito alteraciones principalmente en genes codificantes de proteínas con actividad tirosín-quinasa (TK).

La familia III de las RTK engloba a las proteínas codificadas por *PDGFRA*, *PDGFRB*, *CSF1R*, *c-KIT* y *FLT3*, todos ellos receptores de factores de crecimiento que participan en vías de transducción de señales implicadas en la proliferación y diferenciación celular. Se han descrito alteraciones como fusiones, amplificaciones, deleciones y, en algunos casos, mutaciones puntuales que provocarían su actividad constitutiva e independiente de ligando de estos receptores.

Se han analizado los exones codificantes de los dominios transmembrana y TK de *PDGFRA*, *PDGFRB*, *CSF1R*, *c-KIT* y *FLT3* mediante dHPLC en 44 muestras de pacientes diagnosticados de NMPC *BCR-ABL1* y V617F *JAK2* negativos (4 PV, 15 TE, 4 MFI y 21 NMPC atípicos). Posteriormente se han secuenciado aquellas muestras con perfiles de elución distintos a lo considerado como normal. Además, se han incluido en el estudio 20 muestras de individuos sanos como control para comprobar la frecuencia de los polimorfismos encontrados en la población normal.

Resultados

Se han identificado cambios de secuencia no descritos previamente en heterocigosis, tanto en los intrones como en los exones de las regiones de los genes estudiados (Tabla 1). Además, se han detectado numerosos polimorfismos de tipo SNPs tanto en los pacientes como en los individuos control.

Conclusiones

Las mutaciones encontradas que se localizan en intrones no afectan a secuencias de *splicing*. Los cambios de secuencia observados en los exones, correspondientes a los dominios TK y transmembrana, son silenciosos (no provocan cambio de aminoácido). Además, dos de estos cambios (31055G>A en *PDGFRB* y 57982G>A en *CSF1R*) no están descritos aparecen en individuos control, por lo que pueden ser polimorfismos, tipo SNP, no descritos hasta la fecha. En cuanto a los SNPs observados, no se han encontrado diferencias significativas en su distribución entre ambos grupos que pudiesen relacionarlos con la presencia de la enfermedad.

Por ello, parece que en este tipo de pacientes no existen alteraciones de secuencia en las regiones analizadas de estos genes que pudieran explicar la patogénesis de la enfermedad.

GEN	POSICIÓN	LOCALIZACIÓN	AA	Nº MUESTRAS
<i>PDGFRA</i>	59668G>A	Intrón 20		2 (NMPCa)
<i>PDGFRB</i>	31055G>A	Exón 13	T618T	3 (1 TE, 2 NMPCa)
<i>CSF1R</i>	57328C>G	Exón 19	L845L	2 (TE)
	57982G>A	Intrón 20		2 (TE)
<i>c-KIT</i>	69376A>G	Exón 10	K546K	1 (TE)
	75163C>T	Exón 17	I798I	3 (NMPCa)
<i>FLT3</i>	72453delTG	Intrón 16		2 (1MFI, 1NMPCa)
	84872C>A	Intrón 20		1 (TE)

Tabla 1. Mutaciones encontradas mediante dHPLC para la familia III de RTKs en 44 con NMPCs. Se muestra (columnas de izquierda a derecha): gen que presenta la mutación, nucleótido que está afectado a nivel genómico, localización a nivel de intrones o exones, a qué aminoácidos afecta y el número de muestras en las que se ha encontrado dicha alteración.

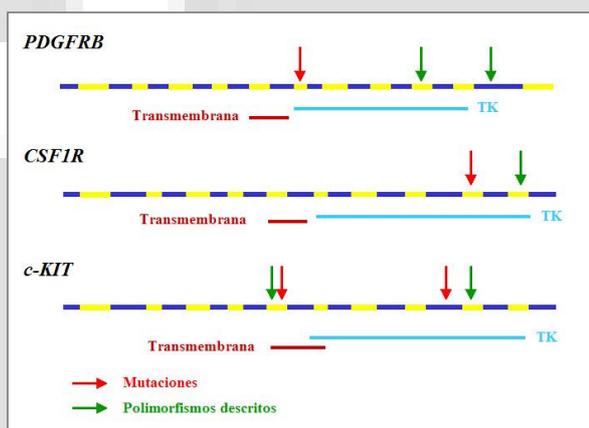


Figura 1. Representación gráfica de los resultados obtenidos en el análisis de *PDGFRB*, *CSF1R* y *c-KIT* mediante dHPLC. Se ha representado la secuencia de exones codificantes de dichas proteínas, junto con los dominios transmembrana y TK de las mismas. Las flechas rojas y verdes representan, respectivamente, las mutaciones puntuales y los polimorfismos encontrados. Estas alteraciones no conllevan cambio de aminoácido.