

CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE LAS MUTACIONES DE BMPR2 EN PACIENTES CON HIPERTENSIÓN PULMONAR ARTERIAL GRUPO 1

Adolfo Baloira, Abel Pallarés, Guillermo Pousada, Diana Valverde
S. de Neumología, Complejo Hospitalario Universitario de Pontevedra, Facultad de Biología Universidad de Vigo



INTRODUCCIÓN

BMPR2 es sin duda el gen más importante implicado en la patogenia de la hipertensión pulmonar arterial (HPA). El gen está localizado en el cromosoma 2 en posición q33. En torno al 80% de los casos con HPA familiar y entre el 20%-40% de las formas idiopáticas son portadoras de mutaciones en este gen. Sin embargo, sólo un 20% de los portadores desarrollan la enfermedad, debido a la baja penetrancia del gen y a que se necesitan posiblemente otras alteraciones o bien daño exógeno asociados. Se han descrito más de 300 mutaciones en este gen en pacientes con HPA.

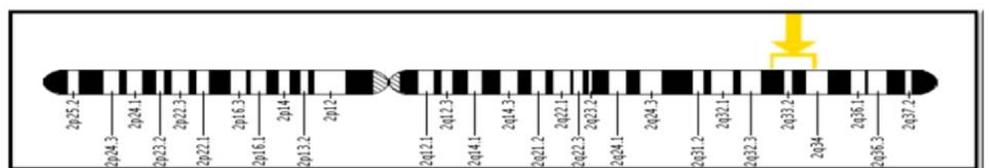
OBJETIVOS

Caracterizar funcionalmente las mutaciones en el gen BMPR2 en pacientes con HPA del grupo I. Hacer una correlación genotipo/fenotipo

MATERIAL Y METODOS

Se incluyeron 55 pacientes (28 HPA idiopática, 27 HPA asociada, la mayor parte a esclerosis sistémica) con una edad media en el momento del diagnóstico de 50 ± 16 años. 55 individuos sanos actuaron como controles. El ADN se extrajo de leucocitos periféricos. Mediante PCR y con los primers descritos por Deng et al se amplificó la zona correspondiente al gen. Los fragmentos se purificaron con el Nucleic Acid and Protein Purification kit (NucleoSpin Extract II; Macherey-Nagel, Germany). Los fragmentos fueron analizados mediante ABI PRISM 3100 genetic analyzer (Applied Biosystems, Cal). Las variantes genéticas encontradas se seleccionaron mediante 8 programas informáticos para valorar su posible patogenicidad. Se estudió la expresión funcional mediante cuantificación del ARNm en cultivos celulares a través de la creación de minigenes con el vector pSPL3 para las mutaciones missense, nonsense y cambios sinónimos. Para el estudio de sublocalización intracelular de las mutaciones se usó el vector pEGFP-N1. Para comparación entre variables hemodinámicas y genotipo se usó el test de Chi-cuadrado. Las medias se compararon con test no paramétricos

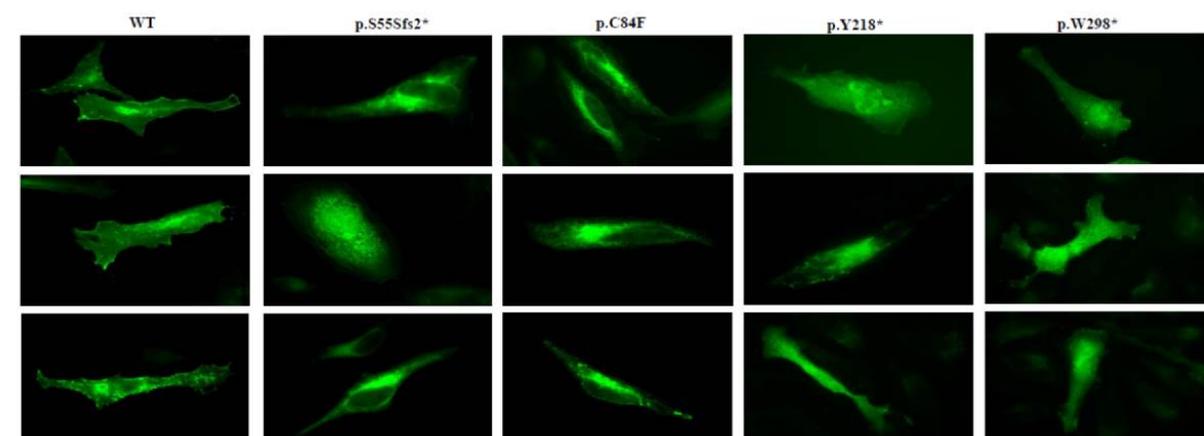
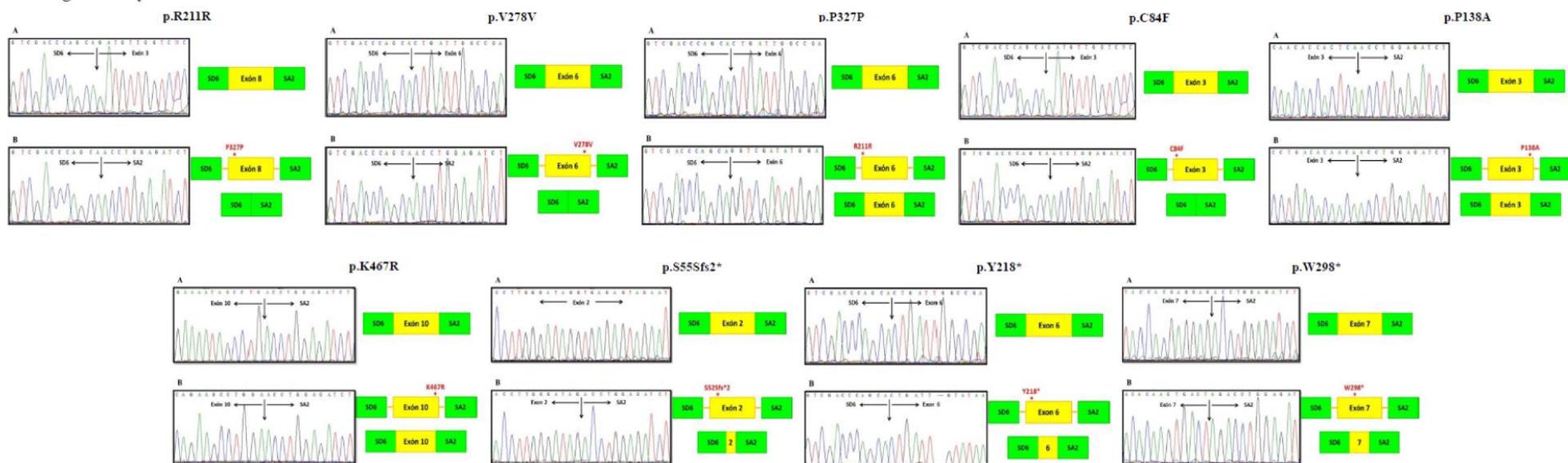
Localización del gen BMPR2 en el cromosoma 2q33



RESULTADOS

Se encontraron 23 mutaciones potencialmente patogénicas según el análisis *in silico* en 16 pacientes (10 HPA idiopática, 6 HPA asociada) y ninguna en los controles. Al realizar el estudio funcional sólo 9 de ellas dieron lugar a disminución en la síntesis de ARNm. El estudio de sublocalización citoplasmática mostró un patrón perinuclear en el gen no mutado mientras que 4 de las mutaciones dieron lugar a un patrón citoplásmico difuso. Al hacer correlación genotipo/fenotipo se observó una menor edad en el momento del diagnóstico (42 ± 16 años vs 50 ± 16 años) en los portadores de mutaciones, no mostrando el resto de parámetros clínicos y hemodinámicos diferencias significativas

Minigene Assay:



CONCLUSIONES

BMPR2 juega un papel muy importante en el desarrollo de HAP. La técnica de minigenes permite conocer el efecto patogénico que las mutaciones tienen sobre la expresión de este receptor. Algunas de las mutaciones dan lugar a una deslocalización citoplasmática que dificulta más todavía la función del receptor.