



Universidad de Navarra

# Análisis de la expresión diferencial de distintos transcritos de *PDGFRA* en neoplasias hematológicas con eosinofilia

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

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

## Introducción

Los síndromes hipereosinofílicos (SHE) engloban un conjunto de patologías heterogéneas cuyas características principales son la existencia de eosinofilia mantenida de origen desconocido y daño en tejidos periféricos por infiltración de eosinófilos. En los últimos años se han descrito algunas alteraciones en los SHE en genes que codifican para receptores con actividad tirosínquinasa (RTKs), siendo el más importante *PDGFRA*, cuya fusión con *FIP1L1* se ha encontrado de forma recurrente en la leucemia eosinofílica crónica.<sup>1,2</sup> Estudios previos de nuestro grupo y otros han mostrado que en algunos pacientes existe sobreexpresión del dominio tirosín kinasa (TK) de *PDGFRA* que podría ser consecuencia de otras fusiones no descritas de este gen.<sup>3,4</sup> Sin embargo, nuestros análisis no han permitido identificar ninguna fusión nueva o ya caracterizada. Tras una exhaustiva revisión bibliográfica encontramos información sobre la posible existencia de otros transcritos de *PDGFRA*, no descritos en las bases de datos, cuya expresión podría explicar los resultados obtenidos anteriormente<sup>5</sup> y que podrían dar lugar a proteínas con el dominio TK constitutivamente activado por un mecanismo igual al observado en la fusión *FIP1L1-PDGFRA*.<sup>6</sup>

## Objetivo

Estudiar la posible relación entre la expresión anómala de alguno de los transcritos alternativos de *PDGFRA* y el desarrollo de hipereosinofilia.

## Material y métodos

Se seleccionó una serie de 22 pacientes con neoplasias hematológicas con eosinofilia. Como control de expresión de *PDGFRA* se utilizó sangre periférica de 7 voluntarios sanos, médula ósea comercial (Clontech-Takara Bio, Madison, WI; EEUU) y las líneas celulares EoL-1 y MG-63.

Se estudió la expresión diferencial de los distintos transcritos de *PDGFRA* mediante RQ-PCR. Para ello se diseñaron tres ensayos de RQ-PCR situados en tres zonas del gen que nos permitieran diferenciar los distintos transcritos (Figura 1).

## Resultados

1. Se ha comprobado la existencia de los transcritos cortos de *PDGFRA*, cuya expresión es normal en sangre periférica.
2. No se observaron diferencias entre pacientes y controles en los perfiles de expresión de ninguna de las 3 zonas de *PDGFRA* estudiadas (Figura 2)
3. Ante la posibilidad de que lo determinante no fuera la presencia o ausencia de alguno de los transcritos sino la relación entre la cantidad de unos y otros, se analizaron los distintos perfiles de expresión de cada uno de ellos de manera cuantitativa, calculando la relación entre la expresión de unos y otros transcritos (Tabla 1). No se observó un perfil de expresión de los distintos transcritos característico de la enfermedad.

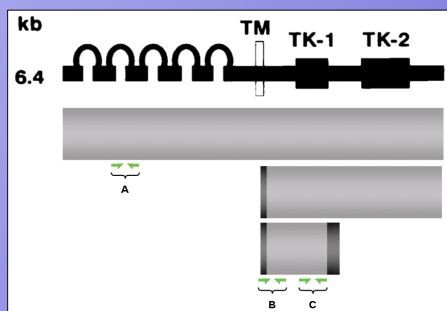


Figura 1. Diseño de los ensayos de RQ-PCR. El ensayo A amplifica un fragmento entre los exones 4 y 5 presente sólo en el transcrito largo. El ensayo B amplifica un fragmento entre el intrón 12 y el exón 13 presente sólo en los transcritos cortos. El ensayo C amplifica un fragmento entre los exones 13 y 14 presente en todos los transcritos de *PDGFRA*

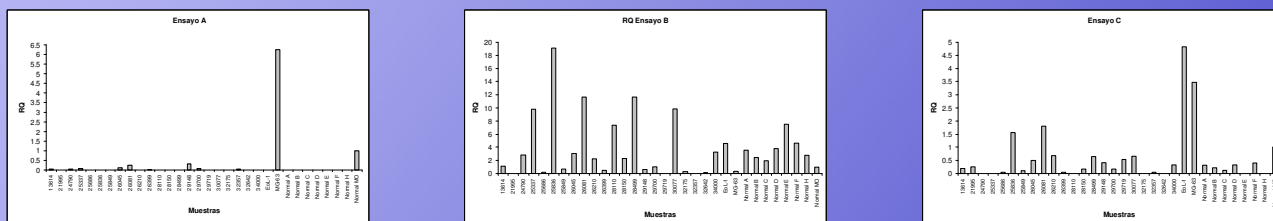


Figura 2. Datos de expresión relativa a médula ósea normal comercial de los 3 ensayos de RQ-PCR de *PDGFRA*

Paciente	Sexo	Diagnóstico	Cociente B/A	Cociente C/A	Cociente C/B
10659	Varón	SHE	2,84	6,11	2,15
12871	Varón	Linfoma de Hodgkin	0,84	3,20	3,82
15637	Mujer	LMA M4 Eo con inv(16)	5,28	10,32	1,95
18161	Mujer	SHE	6,70	5,79	0,86
18472	Varón	SMD	14,40	8,88	0,62
18722	Varón	NMPC atípica	2,27	7,39	3,25
19038	Varón	NMPC atípica	2,66	5,54	2,08
20383	Varón	LEC <i>FIP1L1-PDGFRA</i> +	-	-	7,61
20405	Mujer	SHE	72,96	70,82	0,97
21055	Varón	NMPC	0,21	1,82	8,79
21436	Mujer	SHE	-	0,99	-
23109	Varón	SHE	0,84	1,86	2,22
23285	Varón	SHE	2,53	9,65	3,81
EoL-1		LEC <i>FIP1L1-PDGFRA</i> +	-	-	13,24
MG-63		Osteosarcoma	0,01	0,75	133,34
Normal F	Mujer	Normal	-	-	1,08
M.O		Normal	0,11	1,36	12,61

Tabla 1. Expresión relativa detectada con los tres ensayos para algunas muestras

## Conclusión

Nuestro estudio no ha mostrado una relación entre la expresión diferencial de los distintos transcritos de *PDGFRA* y el desarrollo de la eosinofilia, sin embargo esta metodología permite discriminar la presencia de estos transcritos y detectar la existencia de posibles fusiones de *PDGFRA* de manera cuantitativa.

El método desarrollado puede ser útil para la búsqueda de nuevas fusiones en otros genes RTKs y para el estudio de una posible expresión anómala de los transcritos de *PDGFRA* en otro tipo de enfermedades, como el glioblastoma, donde *PDGFRA* tiene un papel importante.

## Bibliografía

1. Cools J, et al. N Engl J Med 2003;348:1201-1214
2. Griffin JH, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2003;100:7830-7835
3. Ormazábal C, et al. Comunicación Oral C-100. XLVIII Reunión Nacional de la AEHH. XXI Congreso de la SETH. 26-28 de octubre de 2006, Granada. Haematologica (Ed esp);91 (supl 2).
4. Score J, et al. Leukemia 2006;20:827-832.
5. Mosselman S, et al. Cancer Res 1994;54:220-225
6. Stover EH, et al. Proc Natl Acad Sci USA 2006;103:8078-8083

