



Nota Clínica

## Hipertensión arterial pulmonar asociada a lupus eritematoso sistémico: caracterización molecular de 3 casos

Guillermo Pousada<sup>a,b,c</sup>, Mauro Lago-Docampo<sup>a</sup>, Adolfo Baloira<sup>d</sup> y Diana Valverde<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Bioquímica, Genética e Inmunología, Facultad de Biología, Universidad de Vigo, Vigo, España

<sup>b</sup> Instituto de Investigación Biomédica de Ourense-Pontevedra-Vigo (IIS Galicia Sur), Pontevedra, España

<sup>c</sup> Centro de Investigaciones Biomédicas (CINBIO) (Centro Singular de Investigación de Galicia), Universidad de Vigo, Pontevedra, España

<sup>d</sup> Servicio de Neumología, Complejo Hospitalario Universitario de Pontevedra, Pontevedra, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

*Historia del artículo:*

Recibido el 9 de octubre de 2017

Aceptado el 18 de enero de 2018

On-line el xxx

*Palabras clave:*

Hipertensión arterial pulmonar

Lupus eritematoso sistémico

Mutaciones

Modificadores genéticos

Autoinmunidad

### R E S U M E N

**Introducción y objetivos:** La hipertensión arterial pulmonar asociada a lupus eritematoso sistémico (HAP-LES) es una rara enfermedad de baja incidencia. En este estudio se caracterizaron molecularmente los genes y modificadores genéticos relacionados con la HAP en pacientes con HAP-LES.

**Pacientes y métodos:** Se analizaron 3 pacientes diagnosticados de HAP-LES y 100 individuos control, previa firma del consentimiento informado.

**Resultados:** Dos de las 3 pacientes con HAP-LES analizadas resultaron ser portadoras de mutaciones patogénicas en los genes *BMPR2* y *ENG*. Tras el análisis *in silico*, las mutaciones patogénicas se buscaron en individuos control y en diferentes bases de datos, siendo este resultado negativo, por lo que fueron analizadas funcionalmente. La tercera paciente tan solo presentó polimorfismos en los genes *BMPR2*, *ACVRL1* y *ENG*. Se identificaron diversas variaciones en los modificadores genéticos en las 3 pacientes analizadas. La presencia de estos modificadores, junto con las mutaciones patogénicas, podrían dar lugar a un fenotipo más severo en los pacientes con HAP.

**Conclusiones:** Presentamos, por primera vez, pacientes con HAP-LES portadores de mutaciones patogénicas en los principales genes relacionados con la HAP y con alteraciones en los modificadores genéticos.

© 2018 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

### Pulmonary arterial hypertension associated to systemic erythematous lupus: molecular characterization of 3 cases

#### A B S T R A C T

**Background and objective:** Pulmonary arterial hypertension associated with systemic lupus erythematosus (PAH-SLE) is a rare disease with a low incidence rate. In this study, PAH related genes and genetic modifiers were characterised molecularly in patients with PAH-SLE.

**Patients and methods:** Three patients diagnosed with PAH-SLE and 100 control individuals were analysed after signing an informed consent.

**Results:** Two out of the three analysed patients with PAH-SLE were carriers of pathogenic mutations in the genes *BMPR2* and *ENG*. After an *in silico* analysis, pathogenic mutations were searched for in control individuals and different databases, with negative results, and they were thus functionally analysed. The third patients only showed polymorphisms in the genes *BMPR2*, *ACVRL1* and *ENG*. Several genetic variants and genetic modifiers were identified in the three analysed patients. These modifiers, along with the pathogenic mutations, could lead to a more severe clinical course in patients with PAH.

**Conclusions:** We present, for the first time, patients with PAH-SLE carrying pathogenic mutations in the main genes related to PAH and alterations in the genetic modifiers.

© 2018 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

*Keywords:*

Pulmonary arterial hypertension

Systemic lupus erythematosus

Mutations

Genetic modifiers

Autoimmunity

\* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: dianaval@uvigo.es (D. Valverde).

<https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.01.023>

0025-7753/© 2018 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

## Introducción

La hipertensión arterial pulmonar (HAP; OMIM#178600, ORPHA 422) es una enfermedad rara que se hereda de forma autosómica dominante con penetrancia incompleta<sup>1</sup>. Se caracteriza por la remodelación de las arterias precapilares pulmonares, derivando en un engrosamiento de las paredes vasculares y el aumento de la resistencia al flujo sanguíneo que termina provocando insuficiencia cardíaca derecha y, posteriormente, muerte prematura<sup>1</sup>. La HAP tiene una incidencia anual de entre 1,2 y 3,2 casos por millón y una prevalencia de entre 4,6 y 16 casos por millón, afectando entre 2 y 4 veces más a mujeres<sup>2</sup>. La edad media al diagnóstico está en torno a los 45 años, pese a que los síntomas pueden aparecer a cualquier edad<sup>2,3</sup>.

La HAP se clasifica como HAP idiopática, HAP familiar o asociada a otras enfermedades o a la exposición a drogas o toxinas<sup>1,2,3</sup>. Dentro de la HAP asociada a otras enfermedades o a la exposición a drogas o toxinas destaca la HAP asociada a enfermedades del tejido conectivo, siendo la esclerodermia y el lupus eritematoso sistémico (LES) las más frecuentes<sup>1,2,3</sup>. Se estima que la HAP asociada a LES (HAP-LES) aparece entre un 0,5% y un 14% de los pacientes diagnosticados de LES<sup>4,5</sup>. Los pacientes con HAP-LES son en un 90% mujeres jóvenes con una edad media al diagnóstico de 33 años. El tiempo medio desde el diagnóstico de LES hasta el desarrollo de HAP fue en el registro francés de 4,9 años, con una tasa de supervivencia a los 5 años del 83,9%<sup>4,5,6</sup>.

Los mecanismos genéticos de la HAP todavía no han sido descritos completamente. Mutaciones en el gen del receptor de tipo II de la proteína ósea morfogenética (*BMP2*) han sido relacionadas con más del 70% de los casos de HAP familiar y hasta el 40% de los de HAP idiopática. Aunque otros genes como el receptor tipo II de la Activina-Like-Quinasa (*ALK1/ACVRL1*) y la endoglina (*ENG*) también han sido relacionados con el desarrollo de la HAP<sup>7</sup>. Sin embargo, hasta la fecha, en pocos trabajos se han descrito mutaciones en estos genes en pacientes con esclerodermia sistémica<sup>8</sup>. Por el contrario, otros genes han sido relacionados con la esclerodermia sistémica<sup>9,10</sup>.

Hasta la fecha, no se han descrito mutaciones en los principales genes implicados en la HAP en pacientes con HAP-LES. Por ese motivo, en este trabajo realizamos un análisis de los principales genes y modificadores genéticos relacionados con la HAP en 3 pacientes diagnosticadas con HAP-LES.

## Presentación de los pacientes

En el estudio se incluyeron tres pacientes, todas mujeres, con HAP-LES, previa firma del consentimiento informado, de acuerdo con los principios éticos para la investigación médica en seres humanos establecidos en la declaración de Helsinki y promulgados por la Asociación Médica Mundial. Asimismo, el Comité Ético local (Comité Autonomo de Ética da Investigación de Galicia) dio su aprobación para el estudio.

El diagnóstico de la HAP se realizó mediante un cateterismo cardíaco derecho. Los criterios diagnósticos fueron una presión arterial pulmonar media  $\geq 25$  mmHg con una presión arterial enclavada  $\leq 15$  mmHg sin tratamiento, acorde al protocolo establecido por la *European Respiratory Society* y la *European Society of Cardiology*. Dos de las pacientes se encontraban en clase funcional II y un paciente en CF III. En todos los casos se realizó angiotomografía computada para descartar tromboembolia. Para el tratamiento de la HAP se utilizó en 2 casos bosentán y en otro ambrisentán. Las tres pacientes tenían anticuerpos anticardiolipina positivos. El fenómeno de Raynaud estaba presente en 2 de ellas. Una de las pacientes estaba en tratamiento con micofenolato y ciclofosfamida y las otras dos

con ciclofosfamida, prednisona e hidroxicloroquina. Tras 3 años de seguimiento ninguna había fallecido. Las características clínicas y hemodinámicas se muestran en la *tabla 1*.

Como controles, para analizar los cambios identificados en los genes y modificadores genéticos analizados en este estudio, relacionados con la HAP, se han utilizado muestras de 100 individuos sanos de población general sin familiares conocidos afectados de HAP, ya utilizadas en otros estudios por nuestro grupo de investigación<sup>7</sup>.

## Resultados

Se analizaron los genes *BMP2* (receptor tipo II de la proteína ósea morfogenética), *ACVRL1* (receptor tipo II de la activina like quinasa), *ENG* (endoglina) y *KCNA5* (canales K<sup>+</sup> dependientes de voltaje, miembro 5), algunos de los principales genes relacionados con la HAP, en las 3 pacientes incluidas en este estudio. Tras la identificación de las variantes se realizó un exhaustivo análisis *in silico*, de todas las variantes, y un análisis *in vitro*, mediante las técnicas de *Luciferase Assay* y *Minigene Assay* de las variantes encontradas en el gen *BMP2*. Con los análisis *in silico* y funcionales se identificaron mutaciones patogénicas en 2 de las pacientes analizadas. La tercera de las pacientes era portadora de 3 polimorfismos. En la *tabla 2* se pueden observar los cambios en los principales genes para cada una de las pacientes analizadas.

Ninguna de las variantes identificadas en este análisis en las pacientes 1 y 2 fueron detectadas en los 200 cromosomas controles utilizados, para conocer la incidencia de los cambios encontrados en población general. Sin embargo, los 3 polimorfismos detectados en la paciente 3 aparecieron en la población control analizada con una frecuencia de entre un 5% y un 10%. Asimismo, todas las variantes han sido buscadas en diferentes bases de datos (1000 genomas, ExAC y DECIPHER) y tan solo aquellas clasificadas como polimorfismos tras el análisis *in silico* e *in vitro* aparecen en las bases de datos. Para clasificar las variantes como patogénicas, como variantes de significado incierto (VUS) o como polimorfismos hemos utilizado las recomendaciones del Colegio Estadounidense de Genética y Genómica Médica (Richards et al., 2015). Además, las variaciones identificadas en este estudio en la región exónica de los genes se encuentran conservadas durante la evolución.

La variante c.1-301G>A, identificada en la región 5'UTR del gen *BMP2* de la paciente 1, mostró una disminución de la actividad transcripcional del gen tras el análisis funcional mediante la técnica de *Luciferase Assay*. La variante c.637C>A (p.R213R), identificada en la región exónica del gen *BMP2* de la paciente 2, no mostró alteraciones en el mecanismo del *splicing* tras ser analizadas mediante la técnica de *Minigene Assay*. Sin embargo, esta variante es catalogada como patogénica por todos los programas informáticos utilizados, y no aparece en las bases de datos ni en los cromosomas control analizados, por lo que debería ser clasificada como una VUS. La variante c.498G>A (p.Q166Q), identificada en la región exónica del gen *ENG*, también en la paciente 2, ha sido clasificada como patogénica. El conocimiento actual indica que las mutaciones sinónimas pueden desempeñar un importante papel en el procesamiento del ARN. No se ha identificado ningún cambio, para ninguna de las pacientes, en el gen *KCNA5*. En la *figura 1* se muestran los electroferogramas de las variaciones identificadas en estas pacientes.

El análisis molecular de diversos modificadores genéticos (*tabla 2*), mostró que las 3 pacientes eran portadoras del polimorfismo c.1-1853\_1897del44 en el gen *SLC6A4/SERT1* (transportador de serotonina) y una de ellas resultó ser portadora del polimorfismo c.5665G>T (p.K198N) en el gen *EDN1* (endotelina-1). En cuanto a los 3 polimorfismos asociados al gen *TRPC6* (canal receptor de catión de potencial transitorio C, isoforma 6), 2 de ellos estaban presen-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/8762293>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/8762293>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)