

CO-081

LA SECUENCIACIÓN MASIVA DIRIGIDA REVELA QUE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA Y REORDENAMIENTO DE IGH PRESENTAN MUTACIONES EN LOS GENES POT1, EGR2, BRAF, IGLL5 Y MGA

Pérez Carretero C.¹, Rodríguez Vicente A.E.¹, Hernández Sánchez M.¹, Quijada Álamo M.¹, Pablos López A.¹, Hernández Sánchez J.M.¹, Martín Izquierdo M.¹, González T.¹, Benito R.¹, Santos Mínguez S.², Miguel García C.², Hernández García M.A.², Corral Merchán F.², Aguilar Franco C.³, Vargas Pabón M.⁴, Alonso Álvarez S.⁵, Sierra M.⁶, García de Coca A.⁷, Rubio Martínez A.⁸, Vidal Manceño M.J.⁹, Dávila Valls J.¹⁰, Díaz Valdés J.R.¹¹, Queizán J.A.¹¹, Hernández Rivas J.M.¹

¹IBSAL, IBMCC, Universidad de Salamanca, CSIC, Centro de Investigación del Cáncer, Salamanca, Spain, ²Servicio de hematología, Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca, Spain, ³Servicio de hematología, Hospital Santa Bárbara, Soria, Spain, ⁴Servicio de hematología, Hospital de Jario, Asturias, Spain, ⁵Servicio de Hematología, Hospital Central de Asturias, Asturias, Spain, ⁶Servicio de Hematología, Hospital Virgen de la Concha, Zamora, Spain, ⁷Servicio de hematología, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, Spain, ⁸Servicio de hematología, Hospital Miguel Servet, Zaragoza, Spain, ⁹Servicio de hematología, Hospital Virgen Blanca, León, Spain, ¹⁰Servicio de hematología, Hospital Nuestra Señora de Sonsoles, Ávila, Spain, ¹¹Servicio de hematología, Hospital General, Segovia

Introducción: La traslocación de la región 14q32, que contiene el gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IGH), aparece en el 4-9% de pacientes de leucemia linfática crónica(LLC). Aunque algunos estudios le atribuyen a este subgrupo un pronóstico desfavorable, sus características clínicas y biológicas no se conocen en profundidad. La secuenciación masiva (NGS) ha mejorado notablemente el conocimiento de la heterogeneidad genética y clínica de la LLC, por lo que nos planteamos el análisis del perfil mutacional de estos pacientes para definir mejor su pronóstico.

Métodos: Se analizaron 231 pacientes de LLC, de los cuales 42 presentaban traslocación de 14q32. En todos los casos se disponía de datos clínicos y FISH. Se diseñó un panel personalizado de 54 genes, seleccionados por su frecuencia e implicación en la patogenia de la enfermedad. La secuenciación se realizó en la plataforma NextSeq(Illumina). El panel cubre el 97% de las regiones (>100X) con una profundidad de 606 lecturas/base, permitiendo la detección de variantes presentes en >3% de las células.

Tabla 1. Frecuencias de los genes mutados en LLC y en el subgrupo con reordenamiento de IGH.

GENES MUTADOS	FRECUENCIA DE MUTACIÓN EN LLC CON REORDENAMIENTO DE IGH (%)	FRECUENCIA DE MUTACIÓN EN LLC (%)*
NOTCH1	28	10-11
POT1	14	2-3
TP53	9,5	9-10
SF3B1	7	10
EGR2	7	2
BRAF	7	3
IGLL5	7	2
MGA	7	2
HIST1H1E	4,8	2
BCL2	4,8	<1

Resultados: 1) El 71% de los pacientes (30/42) tenía al menos una mutación. Se identificaron 72 mutaciones en 32 genes, siendo la media de mutaciones por paciente 1,7(0-6). Los genes más frecuentemente mutados fueron NOTCH1(28%), POT1(14%), TP53(9,5%), SF3B1(7%), EGR2(7%), BRAF(7%), IGLL5(7%) y MGA(7%)(Tabla 1). Además, las mutaciones en BRAF($p=0,003$) y EGR2($p=0,021$) se asocian exclusivamente a este subgrupo. El análisis del tiempo hasta el primer tratamiento (TPT)(Figura 1) mostró que los pacientes con reordenamiento de IGH tienen un pronóstico intermedio-malo, con una mediana (24 meses) más próxima a las LLCs 11q- y +12 (29 y 28, respectivamente)($p<0,0001$) siendo, sin embargo, la media de mutaciones por paciente(1,7) menor que en estos subgrupos(2,18 en 11q- y 2,19 en +12). De manera interesante, la incorporación del análisis mutacional permitió demostrar que la presencia de mutaciones en los genes más frecuentemente mutados

en estos pacientes (NOTCH1, POT1, TP53 o SF3B1) reduce significativamente el TPT ($p=0,018$). 2) El 40% de pacientes con reordenamiento de IGH (17/42) presentaban la t(14;18), siendo la media de mutaciones por paciente(1,05) significativamente menor ($p=0,039$) que la del resto de pacientes con reordenamiento de IGH(2,16). En el subgrupo con t(14;18), los genes más frecuentemente mutados fueron NOTCH1(17%), BCL2(11%) e HIST1H1E(11%), mientras que en el resto fueron NOTCH1(36%), POT1(20%) y TP53(16%). Estas diferencias podrían explicar el hecho de que las t(14;18) se asocien a marcadores de buen pronóstico como IGHV-m($p=0,02$). Sin embargo, no se observaron diferencias en el TPT entre el grupo con t(14;18) y el resto($p=0,27$).

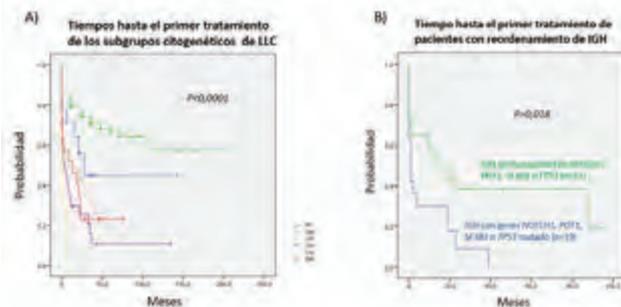


Figura 1. A) Tiempo hasta el primer tratamiento de los subgrupos citogenéticos incluidos en nuestro estudio (n=231). B) Tiempo hasta el primer tratamiento de pacientes con reordenamiento de IGH (n=42), en función de la presencia de mutaciones en NOTCH1, POT1, SF3B1 o TP53.

Conclusiones: 1. Los pacientes de LLC con reordenamiento de IGH se caracterizan por: a) una elevada frecuencia de mutación; b) la presencia de un alto porcentaje de mutaciones en genes que mutan con poca frecuencia en LLC: POT1, EGR2, BRAF, IGLL5 y MGA y c) presentar un pronóstico intermedio-malo que se agrava en presencia de mutaciones genéticas. 2. Los pacientes con t(14;18) tienen una frecuencia de mutación menor que el resto de reordenamientos, presentan mutaciones en BCL2 e HIST1H1E y se asocian con marcadores de buen pronóstico como IGHV-m.

Agradecimientos: PI15/01471; CIBERONC CB16/12/00233; FEHH-Jansen(MHS); JCyL(MQÁ); CIBER(CPC).

CO-082

DISEÑO DE UNA PLATAFORMA DE NGS PARA EL ANÁLISIS INTEGRADO DE MUTACIONES GENÉTICAS, ALTERACIÓN DEL NÚMERO DE COPIAS E HIPERMUTACIÓN SOMÁTICA DE IGHV EN LLC

Alcoceba M.¹, García-Álvarez M.², Puiggros A.³, Espinosa-Hevia L.⁴, Gómez-Llonín A.³, Navarro-Bailón A.², Bastida J.M.², Gutiérrez N.¹, García-Marco J.A.⁴, Espinet B.³, García-Sanz R.¹, González M.¹

¹Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL, España / Centro de Investigación Biomédica en Red Cáncer (CIBERONC), ²Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Salamanca-IBSAL, España., ³Servicio de Patología, Hospital del Mar, Barcelona / Institut de Recerca Hospital del Mar, Barcelona, ⁴Servicio de Hematología, Hospital Puerto de Hierro, Majadahonda, Madrid

Introducción: El empleo de nuevos fármacos en leucemia linfocítica crónica (LLC) ha permitido revertir el mal pronóstico que confieren tanto las alteraciones de TP53 (deleción y mutación) como la ausencia de hipermutación somática (HMS) del gen de la cadena pesada de las inmunoglobulinas (IGHV). Estas alteraciones forman parte de las pruebas esenciales pre-tratamiento de la LLC según la guía del *International Workshop on CLL* (iwCLL, Hallek et al, 2018). Para ello se precisa usar tres metodologías independientes, con el consiguiente consumo de tiempo y coste. La secuenciación masiva (NGS) podría integrar los tres tipos de estudios en uno solo.

Objetivos: Diseñar un panel de NGS para la detección de las alteraciones genéticas con valor diagnóstico, pronóstico y predictivo asistencial en LLC, así como otras alteraciones con relevancia clínica.

Pacientes y Métodos: Se diseñó un panel de captura (SureSelect QXT, Agilent) de 170Kb que cubre la región codificante de 17 genes, 11 regio-