

ISSN 0390-6078

Volume 105

OCTOBER  
2020 - S3

 **haematologica**

Journal of the Ferrata Storti Foundation

**LXII Congreso Nacional de la SEHH  
XXXVI Congreso Nacional de la SETH  
Virtual, 26-30 de octubre, 2020**

**ABSTRACT BOOK**

[www.haematologica.org](http://www.haematologica.org)

**LXII Congreso Nacional de la SEHH**  
**XXXVI Congreso Nacional de la SETH**

**Virtual, 26-30 de octubre, 2020**

**COMITÉ ORGANIZADOR**

**PRESIDENTES**

*Dr. Felipe Prósper Cardoso*  
*Dr. José A. Páramo Fernández*

**VOCALES**

*Dra. Ana Alfonso Piérola*  
*Dr. Enrique Andreu Oltra*  
*Dra. M.ª Luisa Antelo Caamaño*  
*Dra. M.ª José Calasanz Abinzano*  
*Dra. Itziar Ezpeletea Iraizoz*  
*Dra. Rocío Figueroa Mora*  
*Dr. José A. García Erce*  
*Dr. Carlos Grande García*  
*Dra. Carolina Guillén Rienda*  
*Dr. Ramón Lecumberri Villamediana*  
*Dra. Andrea Manubens Guarch*  
*Dra. M.ª Carmen Mateos Rodríguez*  
*Dra. Josune Orbe Lopategui*  
*Dr. Bruno Paiva*  
*Dra. M.ª José Paloma Mora*  
*Dr. Carlos Panizo Santos*  
*Dra. Esther Pena Carbó*  
*Dra. Ana Margarita Redondo Izal*  
*Dr. José Rifón Roca*  
*Dra. Paula Rodríguez Otero*  
*Dr. Jesús San Miguel Izquierdo*  
*Dra. Sara Villar Fernández*

**ABSTRACT BOOK**

**LXII Congreso Nacional de la SEHH**  
**XXXVI Congreso Nacional de la SETH**

**Virtual, 26-30 de octubre, 2020**

**COMITÉ CIENTÍFICO**

*PRESIDENTE DEL COMITÉ CIENTÍFICO DE LA SEHH*

*Dr. José María Moraleda Jiménez*

*COMITÉ CIENTÍFICO DE LA SEHH*

*Dra. Ana Alfonso Piérola*

*Dr. Rafael Duarte Palomino*

*(coordinador del Programa Educacional)*

*Dr. Jordi Esteve Reyner*

*Dr. Jesús María Hernández Rivas*

*Dra. Rosario Morales Camacho*

*Dra. Gemma Moreno Jiménez*

*Dr. José Tomás Navarro Ferrando*

*Dr. José Manuel Puerta Puerta*

*Dr. José María Raya Sánchez*

*Dra. Paula Rodríguez Otero*

*Dr. Eduardo Salido Fíerrez*

*Dr. Pedro Sánchez Godoy*

*Dr. Juan Carlos Vallejo Llamas*

*Dra. Lucrecia Yáñez Sansegundo*

*PRESIDENTE DEL COMITÉ CIENTÍFICO DE LA SETH*

*Dr. José Ramón González Porras*

*COMITÉ CIENTÍFICO DE LA SETH*

*Dra. M.<sup>a</sup> Teresa Álvarez Román*

*(coordinador del Programa Educacional)*

*Dr. Saturnino Haya Guaita*

*Dra. Mónica Martín Salces*

*Dra. Josune Orbe Lopategui*

*Dra. Vanessa Roldán Schilling*

*Dra. Dolors Tàssies Penella*

**ABSTRACT BOOK**

significación estadística ( $p=0.1$ ). La presencia de mutaciones en NRAS se asoció de forma estadísticamente significativa a mutaciones en FAM46C ( $p=0.003$ ), mientras que las mutaciones en KRAS fueron poco frecuentes junto a ganancias de 1q ( $p=0.008$ ). BRAF mostró coocurrencia específica con KRAS ( $p=0.007$ ).

**Conclusión:** Los pacientes con MM asintomático de alto riesgo presentan un perfil genético muy similar a los pacientes sintomáticos, con un evento citogenético iniciador (clonal) y similar número de mutaciones por paciente afectando los genes comúnmente considerados *driver*. No obstante, el porcentaje de células con estas anomalías es inferior al del MM sintomático, lo que sugiere la presencia de subclones que aún no proliferan y sobre los que aún no se ha ejercido un proceso de selección.

**CO-034**

**CUANTIFICACIÓN DE MUTACIONES EN NPM1 EN EL DIAGNOSTICO DE PACIENTES CON LMA: COMPARACIÓN DE Q-PCR VERSUS NGS Y MUESTRAS DE SANGRE VERSUS MEDULA ÓSEA**

Stuckey Ruth<sup>1</sup>, Bilbao Sieyro Cristina<sup>1</sup>, Florido Ortega Yanira<sup>2</sup>, Santana Santana Guillermo<sup>1</sup>, González Martín Jesús María<sup>1</sup>, Rodríguez Medina Carlos<sup>3</sup>, Sánchez Sosa Santiago<sup>1</sup>, Sánchez Farías Nuria<sup>1</sup>, Gómez Casares María Teresa<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Las Palmas; <sup>2</sup>Departamento de Morfología, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas; <sup>3</sup>Unidad de Investigación, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Las Palmas

**Introducción:** Un 30% de los pacientes con leucemia mieloblástica aguda (LMA) presenta mutaciones en el exón 12 del gen *NPM1* llegando hasta un 50% en pacientes con cariotipo normal. La mayoría consiste en una inserción de 4 bases que altera el extremo C-terminal.

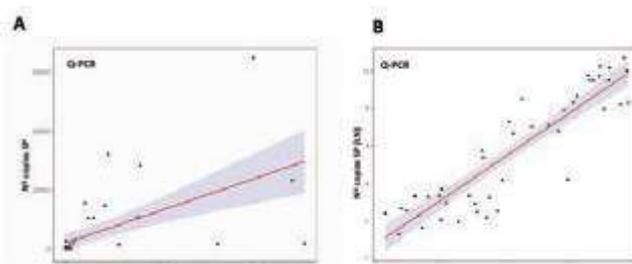
Hoy en día la PCR cuantitativa (Q-PCR) es el método "gold standard" para la cuantificación de mutaciones en *NPM1*. Sin embargo, cada vez más se utiliza la secuenciación masiva (NGS) para la detección y monitorización molecular de mutaciones en pacientes con LMA. Estudios previos han asociado un VAF alto de *NPM1* al diagnóstico a peor pronóstico. Que nosotros sepamos no hay estudios comparando la cuantificación de *NPM1* mutado al diagnóstico en SP versus MO, ni las técnicas de Q-PCR versus NGS.

**Métodos:** Se analizó de forma retrospectiva el ADN y ARN extraído al diagnóstico de muestras de SP/MO de 244 pacientes con LMA diagnosticados entre 2017 y agosto 2019, de los cuales 91 eran *NPM1* mutado. Se realizó multiplex Q-PCR partiendo de ARN total convertido a cADN, utilizando *ABL1* como gen control (normalizado a 10.000 copias) en un Light Cycler 480 (Roche). Se realizó NGS partiendo de 200 ng de ADN genómico con el sistema de secuenciación MiSeq (Illumina) y el panel mieloide SOPHiA Myeloid Solution™. Todas las variables siguieron una distribución normal (Kolmogorov-Smirnov) y se consideraron significativos aquellos valores  $<0.05$ . Se utilizó el programa estadístico R Core Team 2019 (versión 3.6.1).

**Resultados:** De los 47 pacientes con datos de Q-PCR disponible, el número medio de copias de *NPM1* por Q-PCR fue de 13.559 en MO y 4.746 en SP y se observó una buena concordancia entre ambos tipos de muestra (Figura 1). Se podría predecir el número de copias en MO a partir del resultado de Q-PCR en SP aplicando la siguiente fórmula:  $1.1638 + 0.9437 * LN$  ( $N^{\circ}$  copias en SP), siendo LN el logaritmo neperiano. De los 39 pacientes con datos de NGS disponible, 69.2% tenían mutación tipo A, 7.7% tipo Nm, 5.1% tipos B y Z, 2.6% tipo J, y 10.3% tenían otro tipo. La frecuencia alélica media (VAF) de mutaciones en *NPM1* por NGS fue de 31.15%. Tras convertir la VAF a número de copias, la media en MO y SP fue de 1595.13 y 1688.8 copias, respectivamente no existiendo una diferencia significativa entre ambas ( $p=0.775$ , U-Mann-Whitney). Evaluando la concordancia entre la cuantificación con las dos técnicas, no observamos correlación entre los números de copias determinados por Q-PCR versus NGS ni en MO ni SP ( $r=0.19$ ,  $p=0.367$ ;  $r=-0.1$   $p=0.95$ , Spearman, respectivamente).

**Conclusiones:** Actualmente se recomienda, si es posible, la cuantificación por Q-PCR en MO y SP. No encontramos evidencia de una diferencia entre el número de copias de *NPM1* mutado cuantificado por Q-PCR en muestras de MO y SP. Respecto a las técnicas de cuantificación, no hubo correlación entre el número de copias determinado por

Q-PCR y por NGS. Estos resultados indican que no son comparables los resultados obtenidos por Q-PCR sobre ARN (niveles de expresión de la mutación) con la cuantificación de la mutación en ADN genómico. Sin embargo, el análisis de mutaciones por NGS tiene la ventaja de poder analizar numerosos genes de manera simultánea y de detectar variantes raras sin previo conocimiento.



**Figura 1. A. Concordancia entre el número de copias de NPM1 mutado determinado en MO y SP, Spearman coeficiente  $r=0.58$ ,  $p<0.001$ . B. Concordancia aplicando el logaritmo neperiano, Spearman coeficiente  $r=0.91$ ,  $p<0.001$ .**

**CO-035**

**IMPACTO DE LAS QUIMIOTERAPIAS EN LA HEMOPOYESIS MEDIDO POR WHOLE-GENOME SEQUENCING**

Pich Oriol<sup>1</sup>, Cortés Albert<sup>2</sup>, Pratcorona Marta<sup>3</sup>, Muiños Ferran<sup>1</sup>, González-Pérez Abel<sup>1</sup>, López-Bigas Núria<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Research in Biomedicine Barcelona, The Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona, Spain.; <sup>2</sup>Departament d'Hematologia Clínica, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona.; <sup>3</sup>Laboratori d'Hematologia, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau

**Introducción:** Los tejidos somáticos se diferencian como consecuencia de la variación genética y los procesos de selección natural a los que están expuestos. Concretamente en los tumores sólidos, los agentes quimioterápicos eliminan las células neoplásicas, imponiendo una fuerte selección a estos tejido. Algunas células que sobreviven al efecto de la quimioterapia, luego pueden expandirse clonalmente para fundar una metástasis. Estas pueden presentar mutaciones específicas o *signatures* introducidas por el propio fármaco debido a su mecanismo de acción (Pich *et al.*, 2019). Este efecto se aprecia, en especial, en las células tumorales expuestas a fármacos basados en platino y fluorouracilo. En este artículo estudiamos dos fenómenos de expansión clonal, las leucemias agudas relacionadas con el tratamiento (*t-AML*) y la hematopoyesis clonal (*CH*) y su relación con el tratamiento quimioterápico previo mediante la detección de estas *signatures* anteriormente descritas. Nuestra hipótesis plantea que estas *signatures* podrían estar presentes en la nueva expansión clonal.

**Métodos:** Se han estudiado 32 pacientes con *t-AML* (de la Washington University y del Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona) tratados previamente con cisplatino o fluorouracilo mediante la secuenciación del genoma completo (WGS) comparando una muestra de sangre medular al diagnóstico y una muestra correspondiente a la remisión. Para el estudio del fenómeno de la *CH*, se ha realizado la WGS de muestras de sangre de 4000 pacientes de la Hartwig Medical Foundation de Amsterdam con tumores sólidos, algunos tratados (3000) y otros no (1000), comparándolos con la WGS de su propia neoplasia metastásica.

**Resultados:** Comparando las muestras de pacientes con *t-AML* al diagnóstico y a la remisión podemos ver que aquellos tratados con esquemas basados en platinos presentan la huella mutacional característica de esta quimioterapia (8/8) Figura 1. En cambio, no se observa en ninguna leucemia el patrón mutacional causado por el fluorouracilo. Estas mutaciones se encuentran en todas las células de la leucemia sugiriendo que la expansión clonal de la *t-AML* ocurre durante el tratamiento o con posterioridad al mismo Figura 2. Estos pacientes presentan un incremento de mutaciones en TP53 e IDH1 en comparación con *AMLs* primarias. Otro fenómeno de expansión clonal en pacientes sanos es la *CH*. Hemos identificado nuevos genes cuyas mutaciones están relacionadas con la *CH*. Observamos que pacientes que han recibido trata-