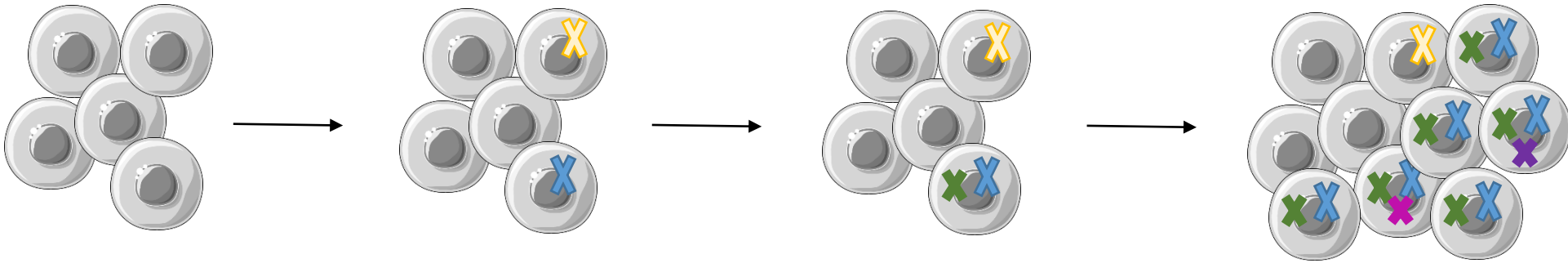


MUTACIONES GERMINALES Y PREDISPOSICIÓN A DESARROLLAR LEUCEMIAS

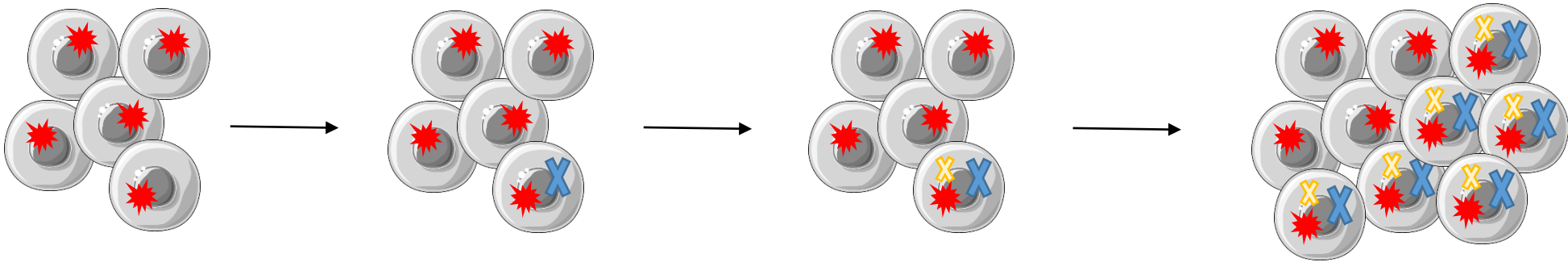


Ana Marín Quílez



Adquisición de una mutación (BCR/ABL, reordenamiento de MLL), o de varias mutaciones (frecuente en SMD o LLC), que confieren a la célula una ventaja proliferativa

Mutaciones germinales que predisponen al desarrollo de leucemias



Predisposición al cáncer: mutaciones germinales en determinados genes que favorecen el desarrollo de un tipo de cáncer. Esta alteración única NO es suficiente para generar un tumor, pero inicia, favorece e incrementa el riesgo de padecer la enfermedad.

Son enfermedades raras e infradiagnosticadas, generalmente con herencia autosómica dominante.

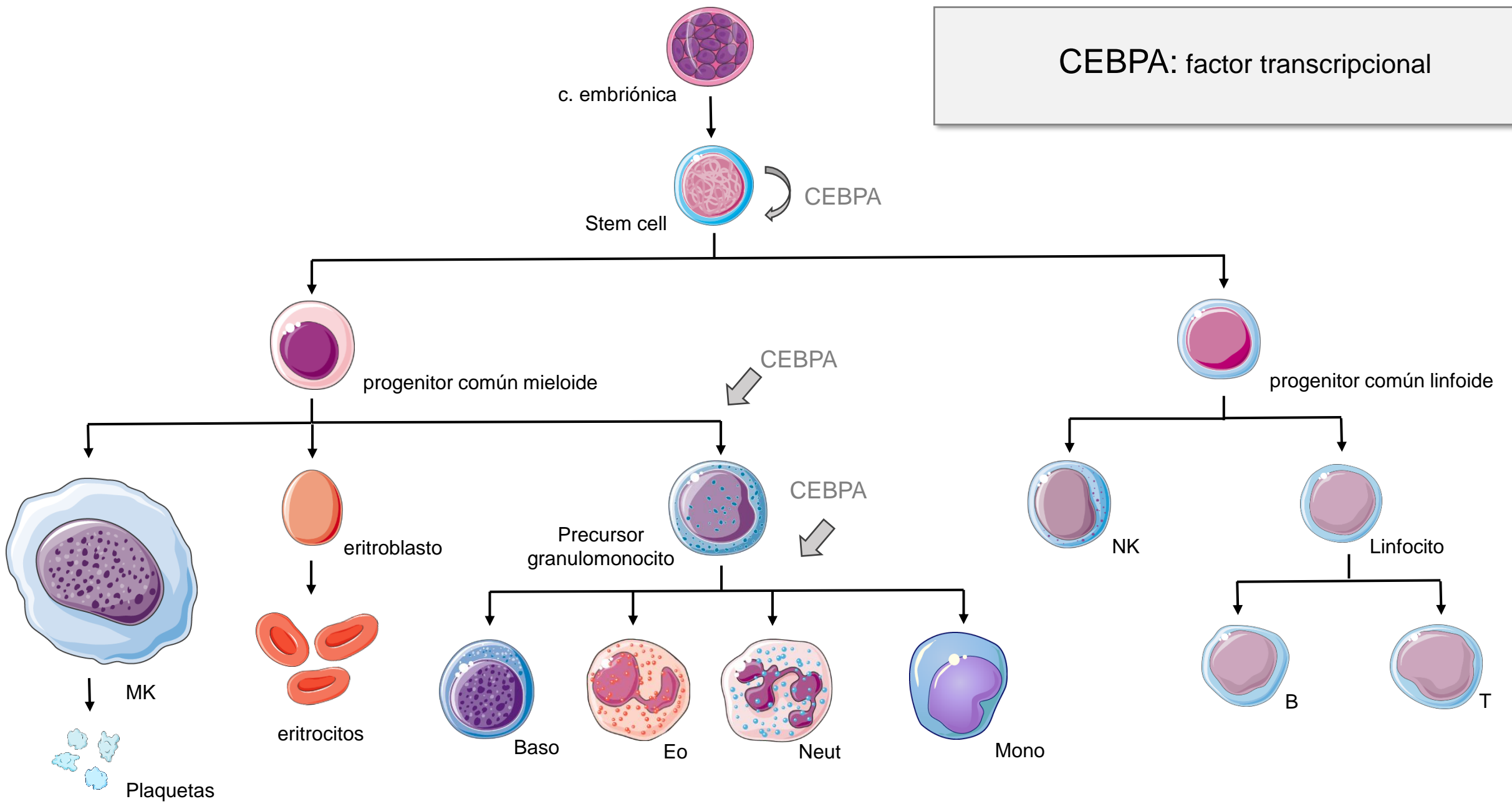
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal sin trastornos previos o disfunción orgánica**
 - CEBPA
 - DDX41 *
 - Li Fraumeni
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con trastorno plaquetario previo**
 - RUNX1 *
 - ANKRD26
 - ETV6 *
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con otra disfunción orgánica**
 - GATA2
 - Síndromes con fallo medular (Anemia de Falconi *, etc)
 - Alteración del mantenimiento de los telómeros (TERT, TERC, etc)
 - Neurofibromatosis y síndrome de Noonan
 - Síndrome de Down *

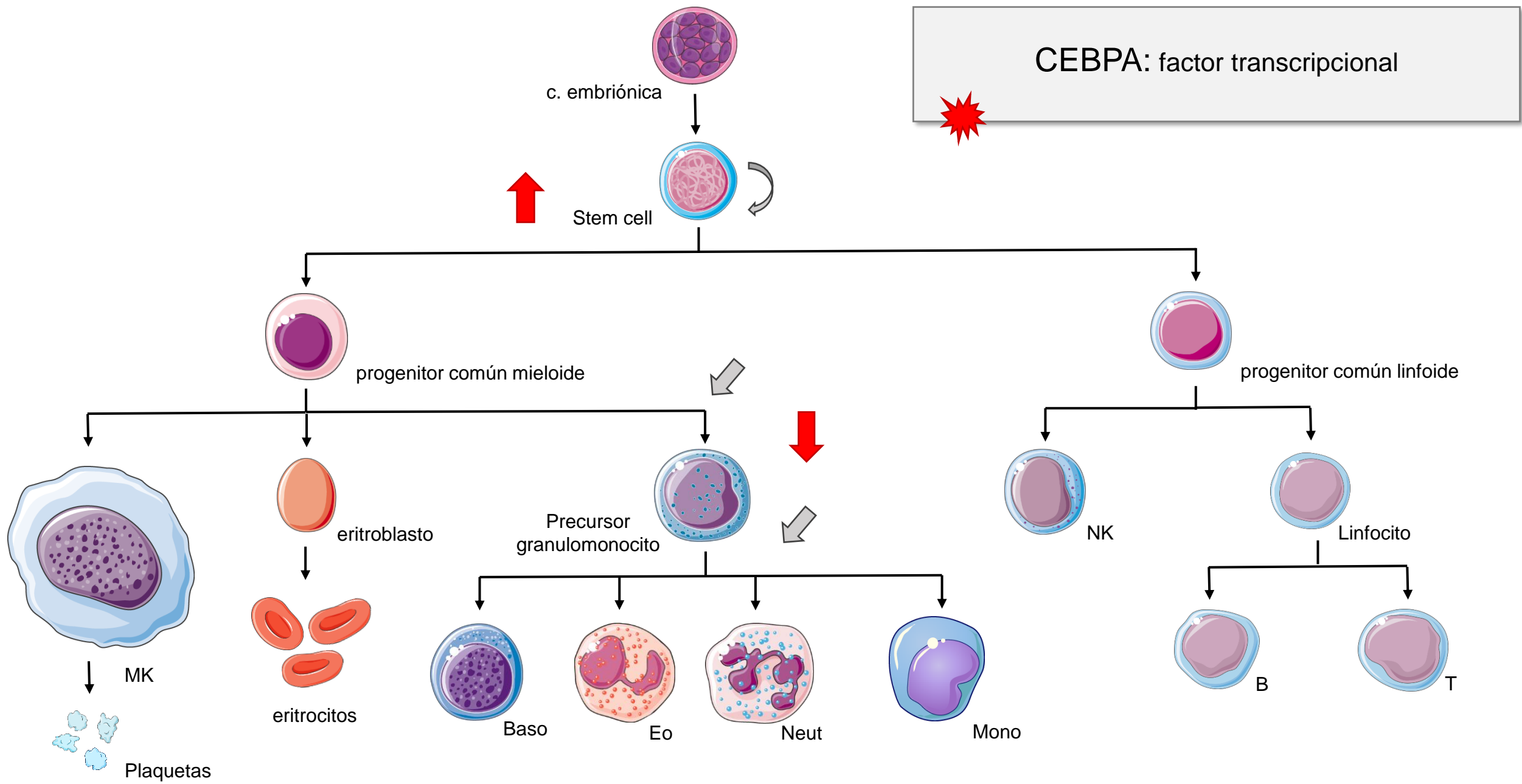
* También descritas en neoplasias linfoides

- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal sin trastornos previos o disfunción orgánica**
 - CEBPA
 - DDX41 *
 - Li Fraumeni
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con trastorno plaquetario previo**
 - RUNX1 *
 - ANKRD26
 - ETV6 *
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con otra disfunción orgánica**
 - GATA2
 - Síndromes con fallo medular (Anemia de Falconi *, etc)
 - Alteración del mantenimiento de los telómeros (TERT, TERC, etc)
 - Neurofibromatosis y síndrome de Noonan
 - Síndrome de Down *

* También descritas en neoplasias linfoides

CEBPA: factor transcripcional





- ~50% de los pacientes con variante en heterocigosis desarrollan LMA. Media 25 años (rango: 2-50).
- Segundo hit: mutación somática del alelo sano de *CEBPA* frecuente (C' terminal). También se ha observado mutaciones en *GATA2*, *WT1*, *EZH2*, *TET2* y *NRAS* (genes relativamente frecuentes en LMA esporádica).
- Mutaciones que cambian el marco de lectura en la region N' – codon de stop prematuro.

Truncamiento de la proteína.

↓ Niveles y función en la hematopoyesis

DDX41: DEAD-Box helicasa



Splicing del mRNA



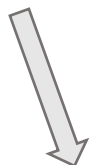
Procesamiento de rRNA



Inmunidad innata

Supresión tumoral

DDX41: DEAD-Box helicasa



Splicing del mRNA

Procesamiento de rRNA

Inmunidad innata



Supresión tumoral

Telómetos significativamente más pequeños en las células de sangre periférica

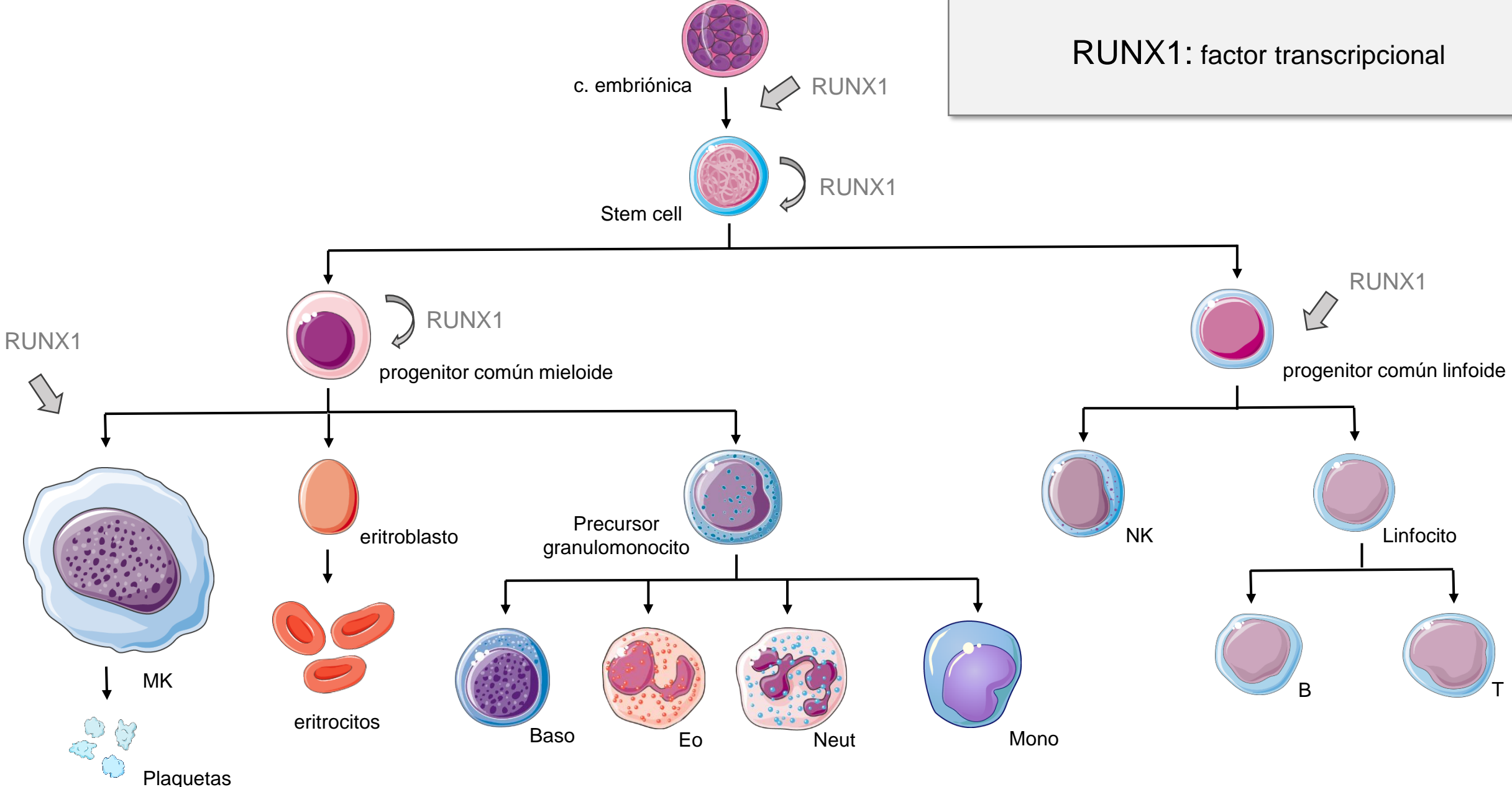
- SMD de alto riesgo / LMA. Media 62 años (40-85), similar a SMD esporádico con *DDX41* somático.
- Se han descrito pacientes con LMC, Hodgkin lymphoma, and non-Hodgkin lymphoma.
- Segundo hit: >50% mutación somática del alelo sano de *DDX41* (missense).
- Mutaciones frameshift: pérdida de función de la proteína.

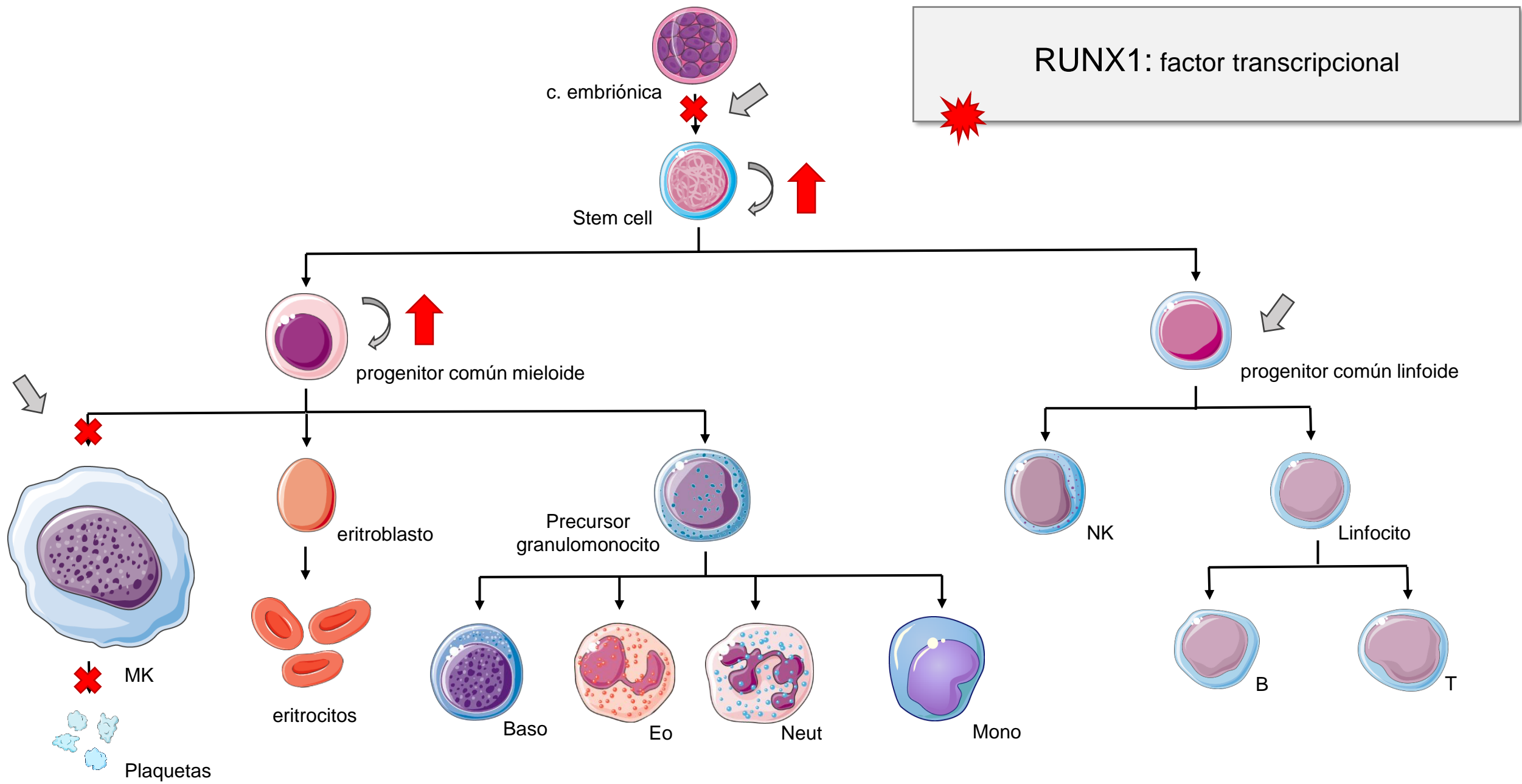
- Mutación germinal de *TP53* generalmente, también descrito en genes *CHEK2* o *POT1*.
Desregulación de la supresión tumoral o del ciclo celular.
- Elevada frecuencia de neoplasia maligna, generalmente de tumores sólidos pero también de leucemias agudas.
- Incidencia en los portadores: 50% a los 30 años, 100% a los 70 años.

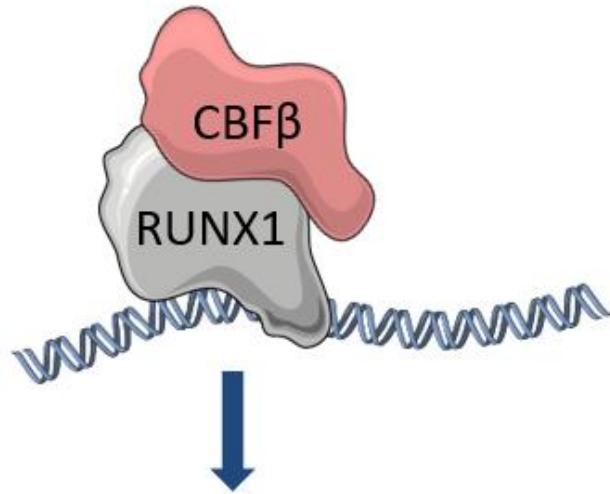
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal sin trastornos previos o disfunción orgánica**
 - CEBPA
 - DDX41 *
 - Li Fraumeni
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con trastorno plaquetario previo**
 - RUNX1 *
 - ANKRD26
 - ETV6 *
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con otra disfunción orgánica**
 - GATA2
 - Síndromes con fallo medular (Anemia de Falconi *, etc)
 - Alteración del mantenimiento de los telómeros (TERT, TERC, etc)
 - Neurofibromatosis y síndrome de Noonan
 - Síndrome de Down *

* También descritas en neoplasias linfoides

RUNX1: factor transcripcional







Transcripción

- Hematopoyesis
- Múltiples genes

MYH10

MPL

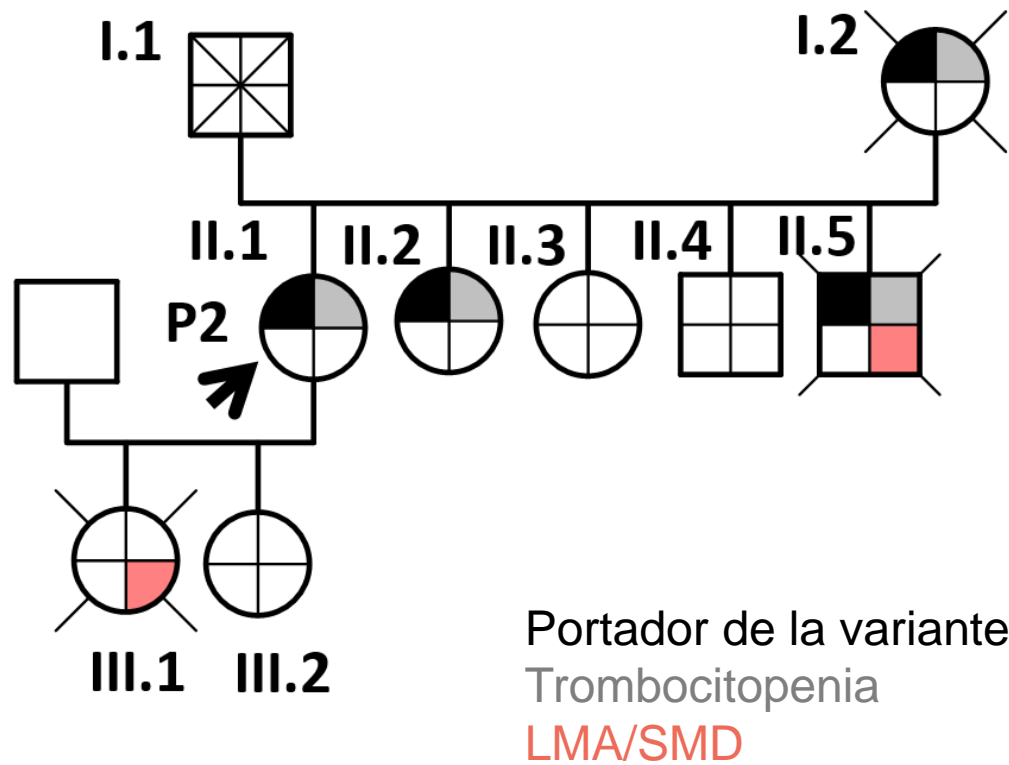
EVI1

TP53

Trastorno Plaquetario Congénito con predisposición a Leucemia Mieloide Aguda (FPD/AML)

- Sangrado leve / moderado
- Disminución de recuento plaquetario
- Alteración de la función plaquetaria
- Desarrollo LMA / SMD (45%) o T-ALL (1-3%).
Media de edad de 33 (6–76)

c.586A>G [p.Thr196Ala] in *RUNX1*



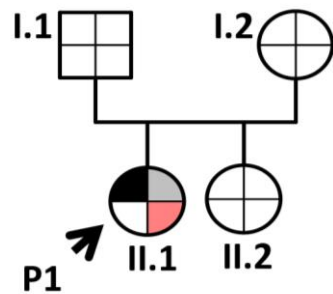
Miembros de una familia, portadores de la misma mutación, pueden presentar cuadros clínicos muy diferentes.

Dificultad en su caracterización

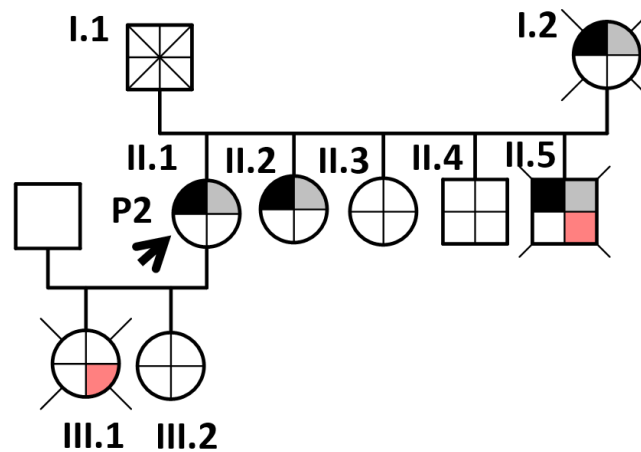
- Más de 100 variantes genéticas descritas
- ~50% de las mutaciones detectadas en RUNX1 son missense.
¿SIGNIFICADO FUNCIONAL / PATÓLOGICO?
- Segundo hit: mutación somática del otro alelo de *RUNX1*, aunque también se han descrito mutaciones en *TP53*, *EVI1*, *MLL*, *GATA2*...
- La pérdida bialélica de *RUNX1* es letal embrionaria, por falta de hematopoyesis definitiva, que concluye en sangrado intracraneal.

¿Cómo se si la variante missense detectada en los pacientes es patógena y causa enfermedad?

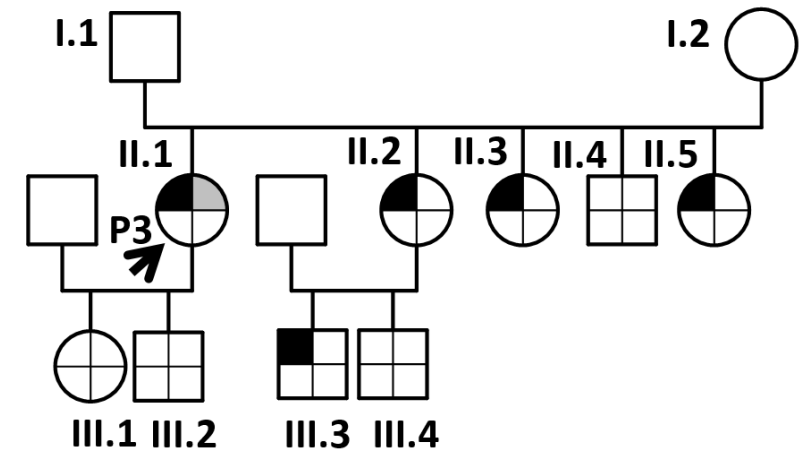
c.802C>T [p.Gln.268*] in RUNX1



c.586A>G [p.Thr196Ala] in RUNX1



c.476A>G; [p.Asn159Ser] in RUNX1



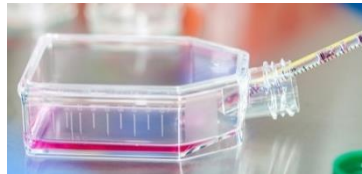
¿Cómo se si la variante missense detectada en los pacientes es patógena y causa enfermedad?

1



Análisis *in silico*
(predictores
patogeneicidad,
Varsome,
Ensemble...)

2



Líneas celulares
(modificadas por
CRISPR/Cas9,
silenciamiento
con siRNA...)

3



iPSC: reprogramación
de células humanas
in vitro

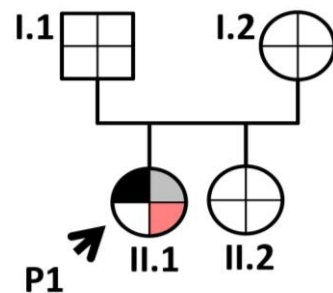
4



Modelos animales
(modificados por
CRISPR/Cas9, Cre
recombinasa...)

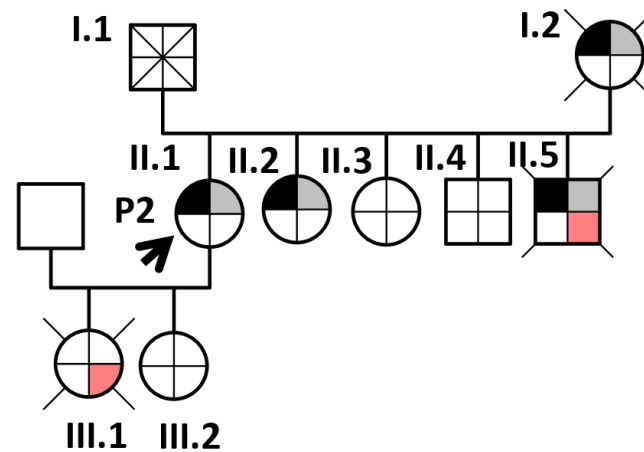
¿Cómo se si la variante missense detectada en los pacientes es patógena y causa enfermedad?

c.802C>T [p.Gln.268*] in RUNX1



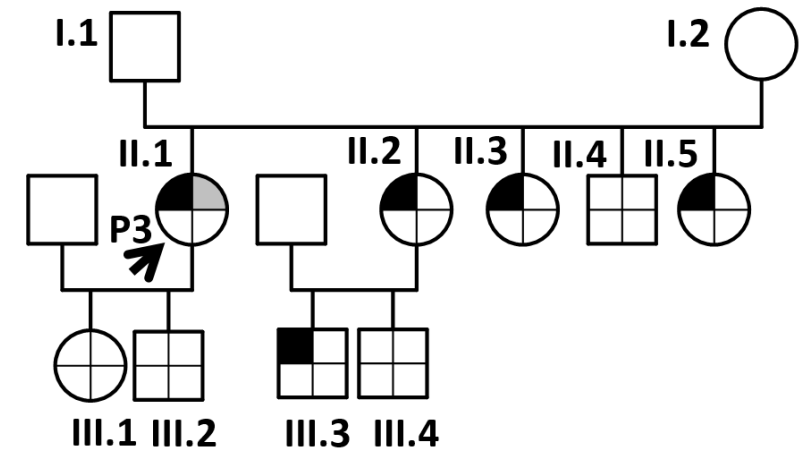
✗ Patóg.

c.586A>G [p.Thr196Ala] in RUNX1



✗ Patóg.

c.476A>G; [p.Asn159Ser] in RUNX1



✓ Benigna

Generación iPSC:

Lamolda M, et al. Stem Cell Res. 2019

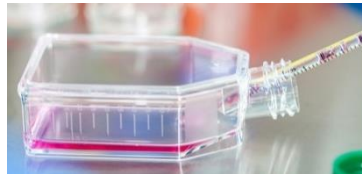
¿Cómo se si la variante missense detectada en los pacientes es patógena y causa enfermedad?

1



Análisis *in silico*
(predictores
patogeneicidad,
Varsome,
Ensemble...)

2



Líneas celulares
(modificadas por
CRISPR/Cas9,
silenciamiento
con siRNA...)

3



iPSC: reprogramación
de células humanas
in vitro

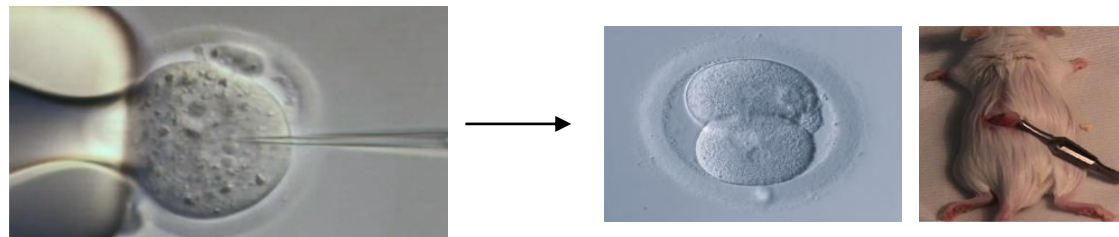
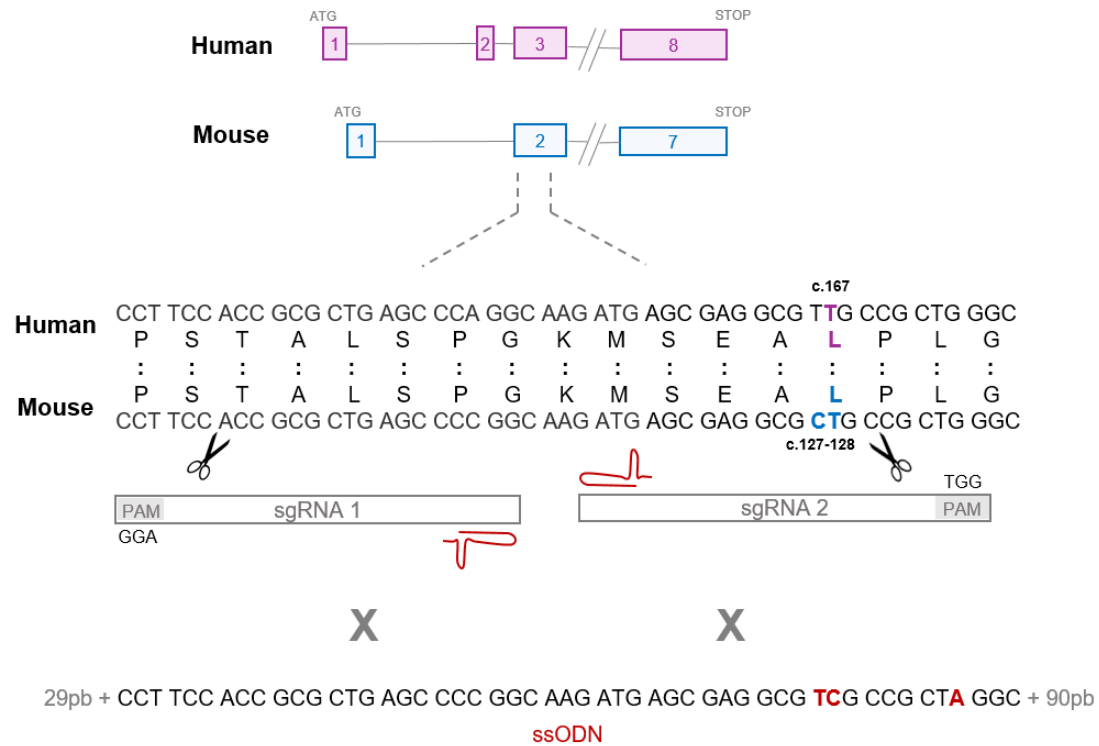
4



Modelos animales
(modificados por
CRISPR/Cas9, Cre
recombinasa...)

RUNX1: caracterización funcional

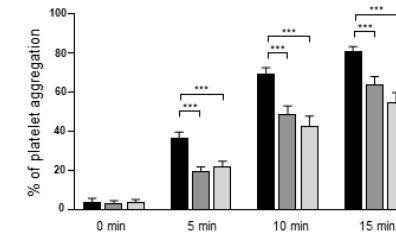
c.167T<C [p.Leu56Ser] in *RUNX1*



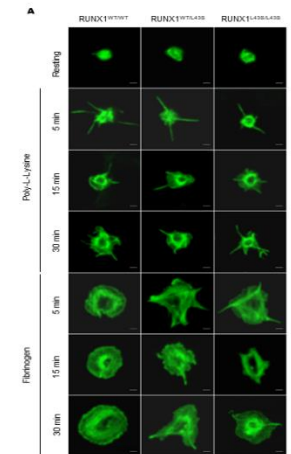
Marín-Quílez A, et al. *Thrombosis and Haemostasis* 2021

• Caracterización trastorno plaquetario

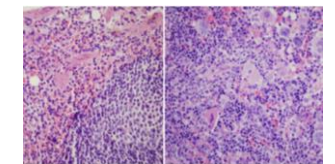
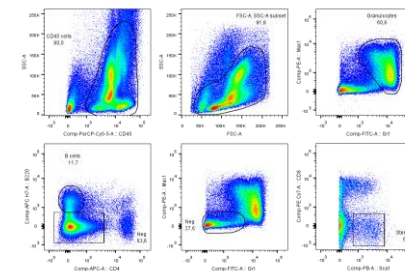
A PMA 3μM



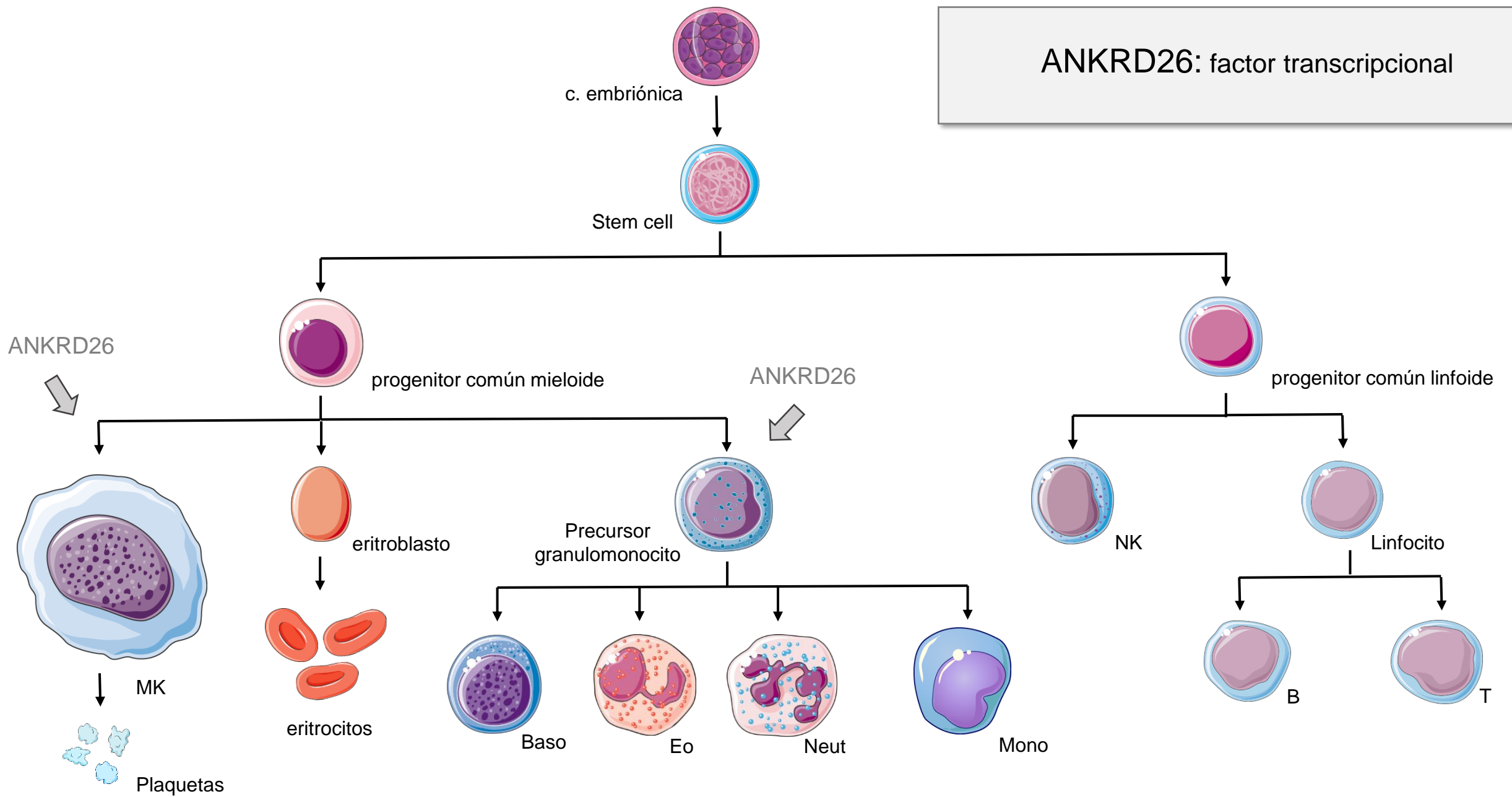
Marín-Quílez A, et al. Under R1 2020



• Caracterización leucémica



ANKRD26: factor transcripcional



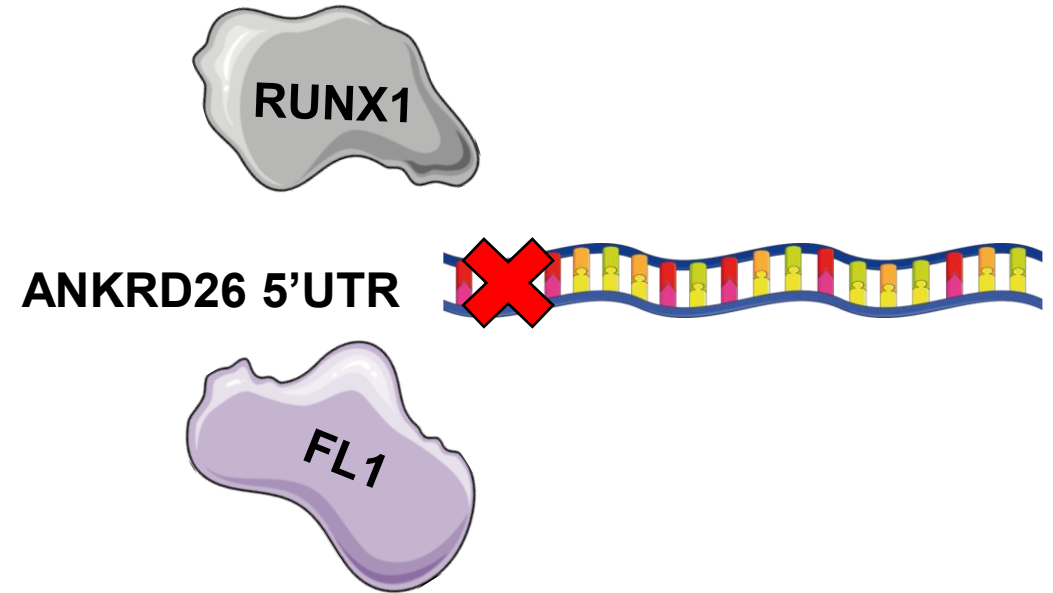
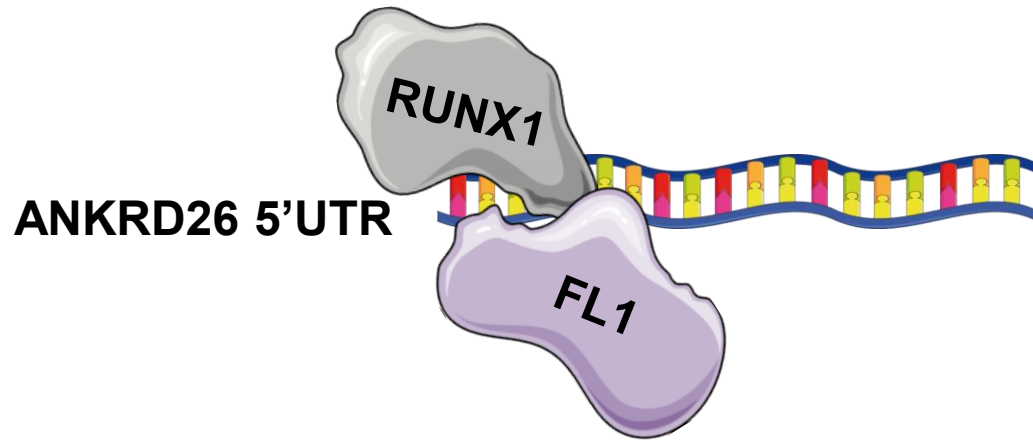
ANKRD26: factor transcripcional

Región 5'UTR



Condiciones fisiológicas

Condiciones patológicas

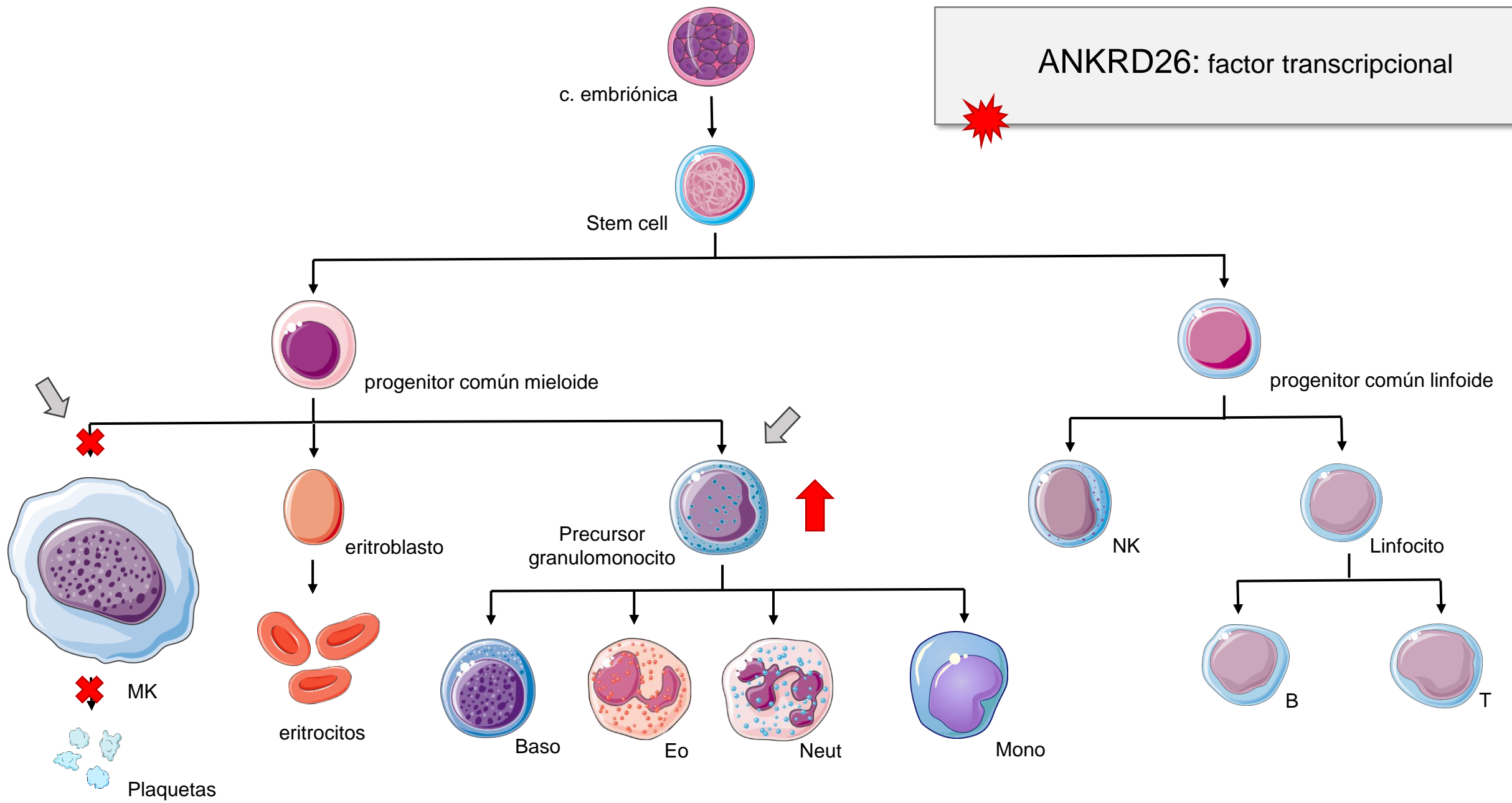


Actividad transcripcional de ANKRD26



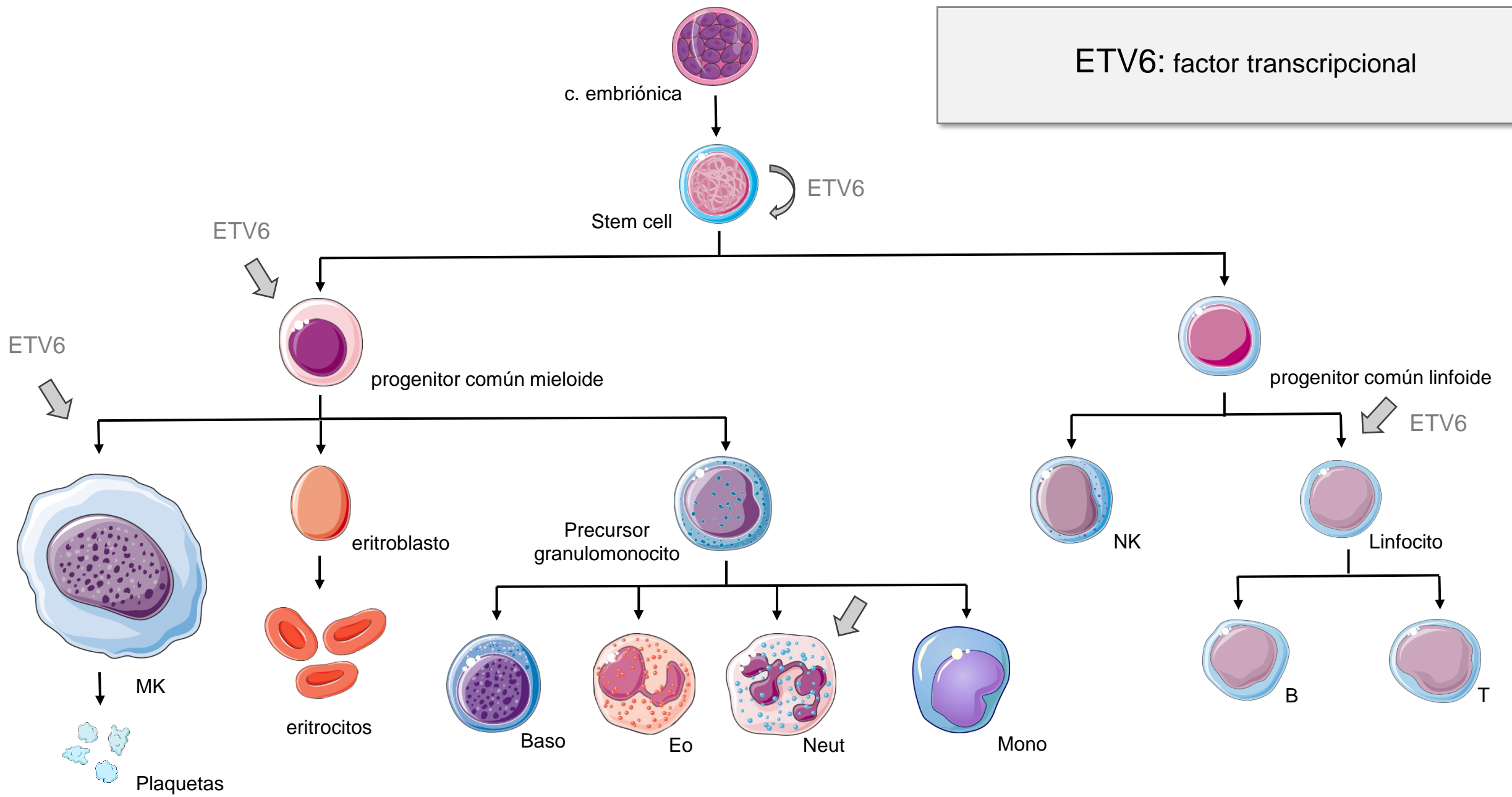
Actividad transcripcional de ANKRD26

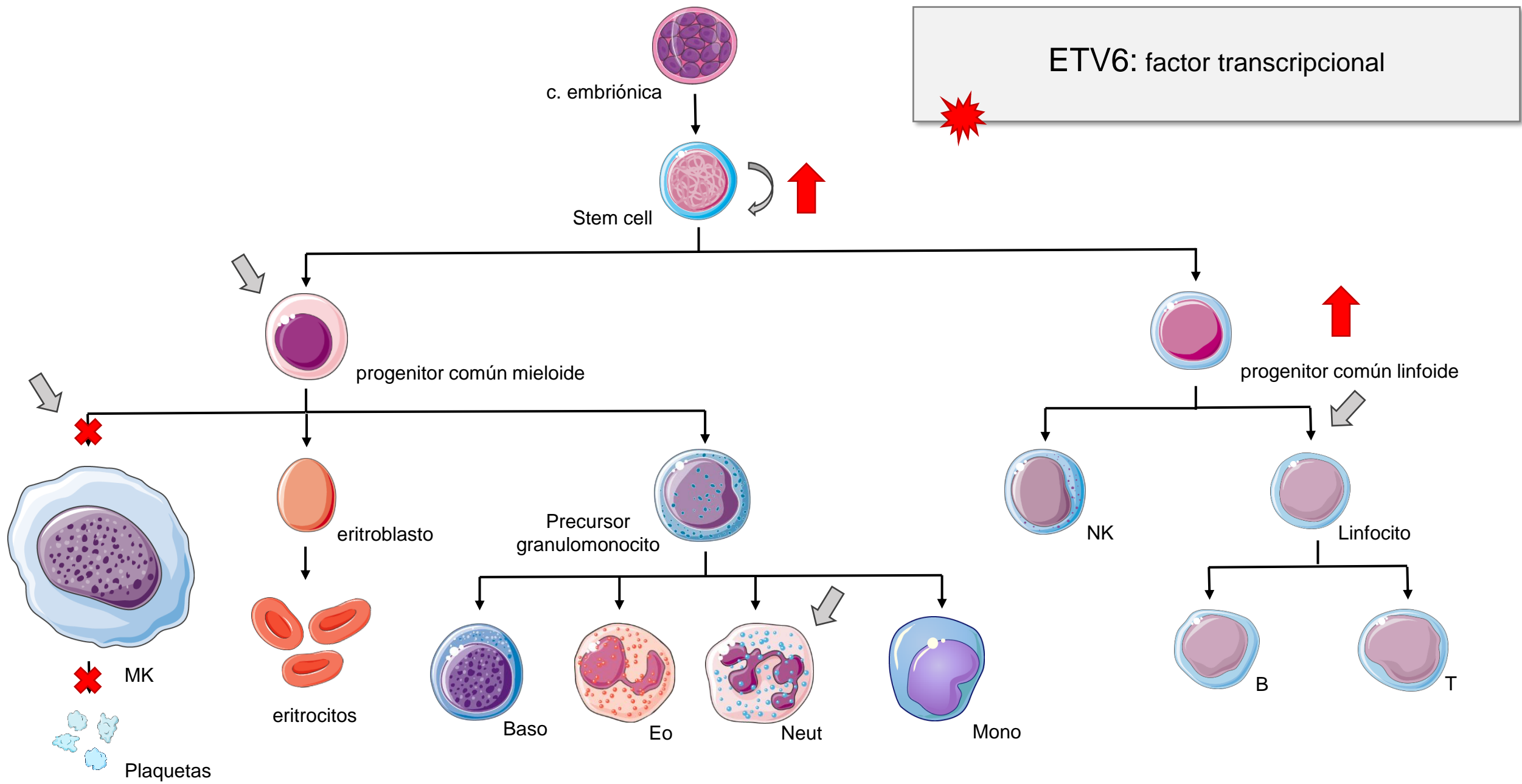
ANKRD26: factor transcripcional



- Las mutaciones en la región codificante de ANKRD26 son menos frecuentes, pero también inducen su sobreexpresión por mecanismos independientes a la interacción RUNX1 / FLI1.
- Sangrado leve / moderado, trombocitopenia muy frecuente (tamaño normal), función plaquetaria alterada.
- Indidencia de LMA / SMD 5-10%, media de edad ~35 años (6-93)
- El desarrollo de LMA / SMD viene ocasionado por la desregulación / sobreactivación de la vía de señalización MAPK/ERK.

ETV6: factor transcripcional



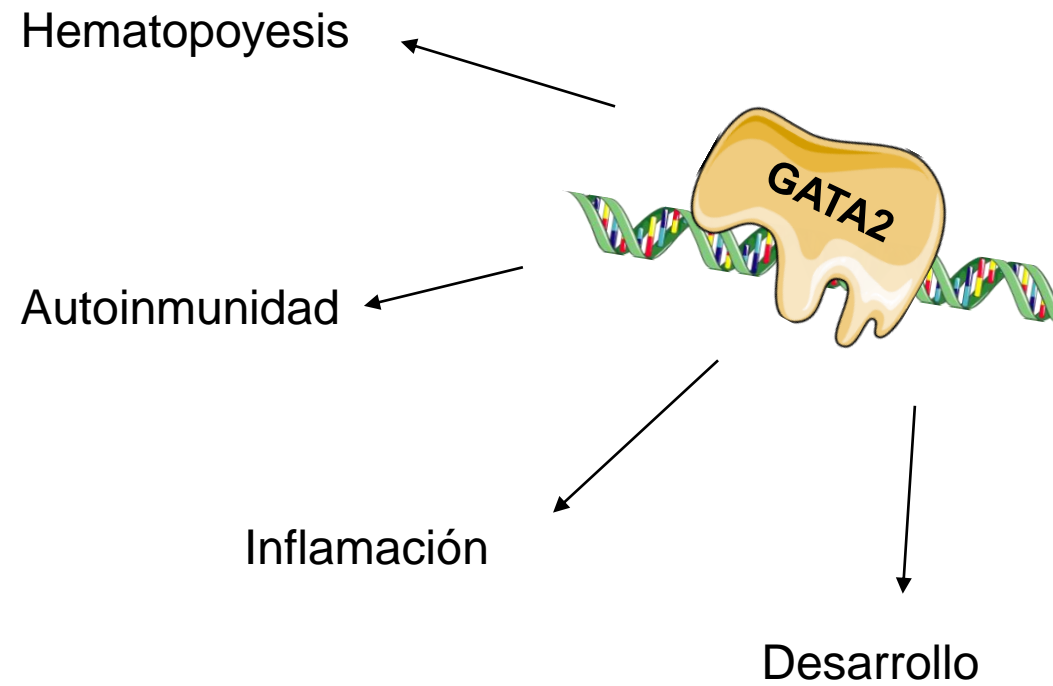


- Sangrado leve / moderado y frecuente trombocitopenia con tamaño normal.
- La neoplasia más frecuente es la Leucemia Linfoblástica B (LLA-B). Aproximadamente el 25% de los portadores desarrollan la enfermedad durante la infancia. También se han descrito LMA / SMD (5-10%), mieloma o policitemia vera. En menor frecuencia, predispone a la aparición de tumores sólidos (colorrectal, mama, riñón, piel y meningiomas).
- Las mutaciones somáticas más frecuentes en los pacientes con ETV6 germinal se localizan en los genes *BCOR*, *RUNX1* y *KRAS*, y la fusión PAX5 con SHB.

- Neoplasia mieloide con predisposición germinal sin trastornos previos o disfunción orgánica
 - CEBPA
 - DDX41 *
 - Li Fraumeni
- Neoplasia mieloide con predisposición germinal con trastorno plaquetario previo
 - RUNX1 *
 - ANKRD26
 - ETV6 *
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con otra disfunción orgánica**
 - GATA2
 - Síndromes con fallo medular (Anemia de Falconi *, etc)
 - Alteración del mantenimiento de los telómeros (TERT, TERC, etc)
 - Neurofibromatosis y síndrome de Noonan
 - Síndrome de Down *

* También descritas en neoplasias linfoides

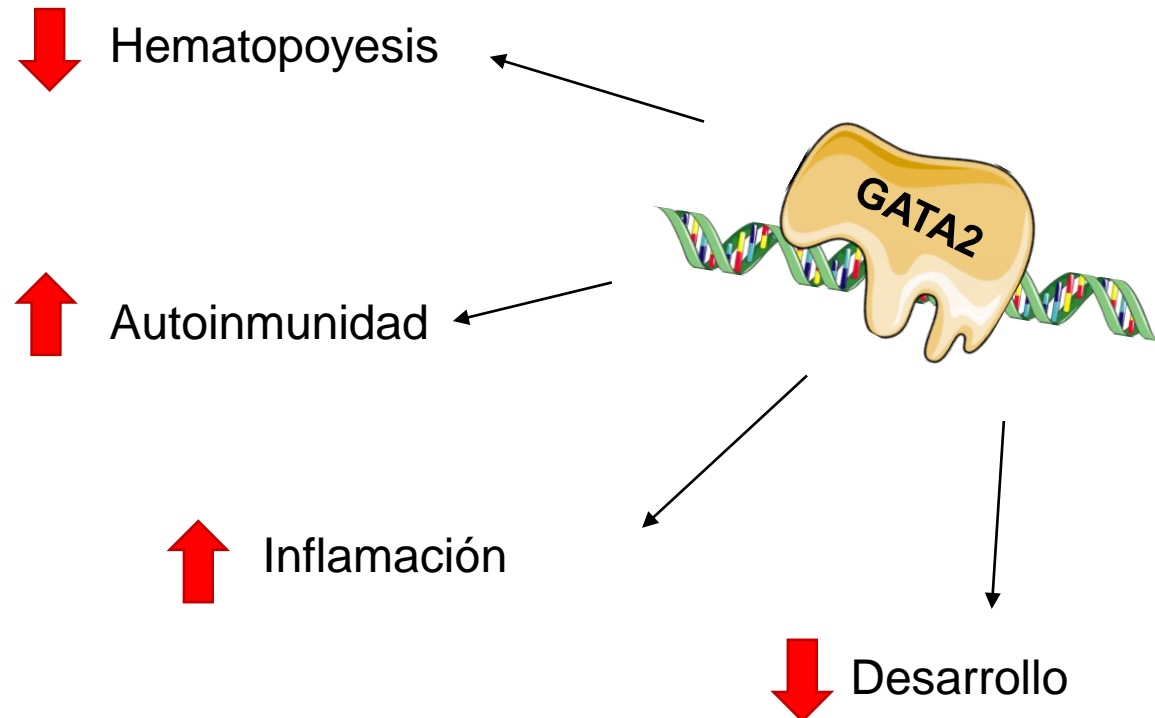
GATA2: factor transcripcional zinc-finger





Afectaciones a nivel sistémico

- Pérdida de capacidad auditiva
- Hipotiroidismo
- Afectación Pulmonar
- Endocarditis
- Citopenias
- SMD/AML
- Infecciones diseminadas
- Displasia genital
- Linfoedemas
- Trombosis Venosa



- Cuadro clínico muy variado, que se manifiesta en individuos <1 año hasta los 78 años (media: 20 años), siendo la manifestación más frecuente las infecciones recurrentes (64%).
- Los individuos portadores desarrollan SMD / AML en el 70% de los casos, con una media de edad de 29 años.
- La pérdida bialélica de *GATA2* es letal embrionaria, por falta de hematopoyesis definitiva.
- Segundo hit: mutación somática de *ASXL1*, genes de la vía de Ras (*NRAS*, *KRAS*; *WT1*) y *STAG2*.

- Neoplasia mieloide con predisposición germinal sin trastornos previos o disfunción orgánica
 - CEBPA
 - DDX41 *
 - Li Fraumeni
- Neoplasia mieloide con predisposición germinal con trastorno plaquetario previo
 - RUNX1 *
 - ANKRD26
 - ETV6 *
- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con otra disfunción orgánica**
 - GATA2
 - Síndromes con fallo medular (Anemia de Falconi *, etc)
 - Alteración del mantenimiento de los telómeros (TERT, TERC, etc)
 - Neurofibromatosis y síndrome de Noonan
 - Síndrome de Down *

* También descritas en neoplasias linfoides

Mutaciones germinales en genes de predisposición a leucemias

- **Neoplasia mieloide con predisposición germinal con otra disfunción orgánica**

FA	AR, XLR	<i>FANCA, FANCB, FANCC, FANCE, FANCF, FANCG, FANCL, FANCM, and FANCT;</i> <i>FANCI and FANCD2;</i> <i>BRCA2/FANCD1, BRCA1/FANCS, FANCR/RAD51, FANCJ, FANCN, FANCO, FANCP, and FANCQ</i>	DNA damage/repair	MDS, AML
Dyskeratosis congenita	AD, AR, XLR	<i>DKC1, TERC, and TINF2</i> <i>TERT, NHP2, NOP10, WRAP53, RTEL1, CTC1, PARN</i>	Telomere maintenance	MDS, AML
Down syndrome	Sporadic	Unknown	Multifactorial	AMKL, ALL
RASopathies	AD	<i>NF1, PTPN11, KRAS, NRAS, SOS1, RAF1, CBL, SHOC2, HRAS, BRAF, MEK1, MEK2, and SPRED1</i>	RAS signaling	NS-MPD, JMML

Emerging leukemia predisposition syndromes

<i>ATG2B/GSKIP</i> duplication	AD	<i>ATG2/GSKIP</i>	Unknown	MPN, AML
<i>ACD</i> mutation	AD	<i>ACD</i>	Telomere maintenance?	BMF
<i>SRP72</i> mutation	AD	<i>SRP72</i>	Unknown	MDS
<i>SH2B3</i> mutation	AR	<i>SH2B3</i>	JAK/STAT signaling	B-ALL
<i>RBBP6</i> mutation	AD	<i>RBBP6</i>	DNA damage/repair?	MPN
<i>LAPTM5</i> and <i>HCLS1</i> mutations	AD	<i>LAPTM5</i> and <i>HCLS1</i>	Unknown	WM

- **Neoplasia linfoide con predisposición germinal causada por genes**
 - ARID5B
 - IKZF1
 - CEBPE
 - CDKN2A / CDKN2B
 - PIP4K2A
- **Neoplasia linfoide con predisposición germinal por traslocaciones**
 - Robertsoniana (15;21)(q10;q10)
- **Neoplasia linfoide con predisposición germinal asociada a síndromes congénitos**
 - Anemia de Falconi / Síndrome de Down *
 - Ataxia telangiectasia
 - Síndrome de Bloom

Necesidad de detectar y caracterizar las mutaciones germinales

La presencia de determinadas alteraciones somáticas en leucemias espontáneas condiciona el pronóstico y tratamiento de los pacientes:

- LMA con *TP53* o *RUNX1* mutado se asocia a mal pronóstico
- SMD con sideroblastos en anillo (*SF3B1* mut) se asocia a buen pronóstico

Pero, ¿por qué es de especial importancia detectar las mutaciones germinales cuando hay sospecha de predisposición / leucemia hereditaria? ¿Cómo afecta al tratamiento?



Necesidad de detectar y caracterizar las mutaciones germinales

El tratamiento de estas enfermedades se basa en el trasplante de células hematopoyéticas, generalmente procedentes de miembros de la familia (hermano, padre, madre...)

Por lo tanto es de vital importancia para seleccionar un donante que no sea portador de la misma mutación germinal que presenta el paciente.



Secuenciación
Masiva (NGS)



**Incremento del rendimiento
diagnóstico y en la detección
de mutaciones hereditarias**

Consejo genético

Se ha detectado una mutación patológica de origen germinal en un paciente con leucemia y sospecha de predisposición genética



Plantear el estudio molecular a los demás miembros de la familia



CONSEJO GENÉTICO

MUTACIONES GERMINALES Y PREDISPOSICIÓN A DESARROLLAR LEUCEMIAS



Ana Marín Quílez