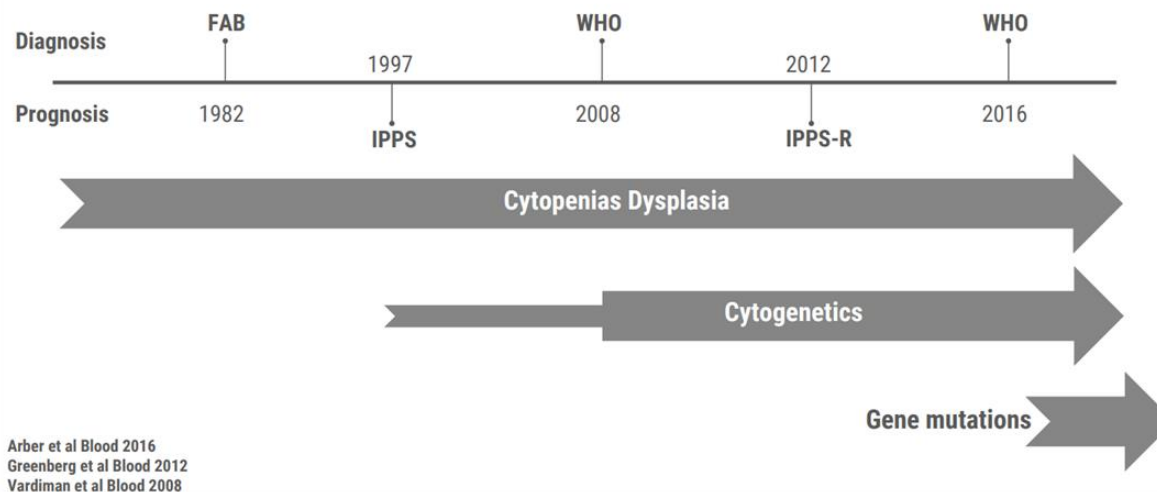


Vyhodnocení mutačních analýz při stanovení diagnózy u nemocných s MDS

Monika Belíčková, et al.
Oddělení genomiky ÚHKT, Praha

Evolution of MDS stratification



WHO 2016 – mutace v *SF3B1*

MDS-RS (MDS-RS-SLD, MDS-RS-MLD) $\geq 15\%$ RS nebo $\geq 5\%$ + mutace *SF3B1*

IPSS-Rm

International Working Group for the prognosis of MDS

Retrospective cohorts

N=1,682

Bejar et al 2011
Haferlach et al 2014
Papaemmanuil et al 2013

Prospective sequencing study

N=4,270

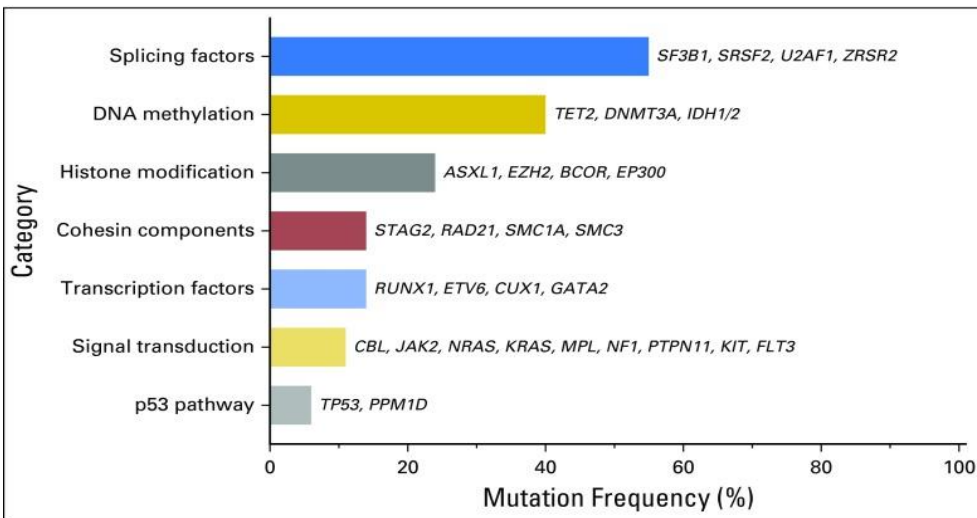
MSKCC IWG-PM Cohort
13 countries 25 centers

Validation

N to be determined

Cleveland
MD Anderson

Skupiny vyšetřovaných genů u MDS



Kennedy JAJ, Clin Oncol, 2017

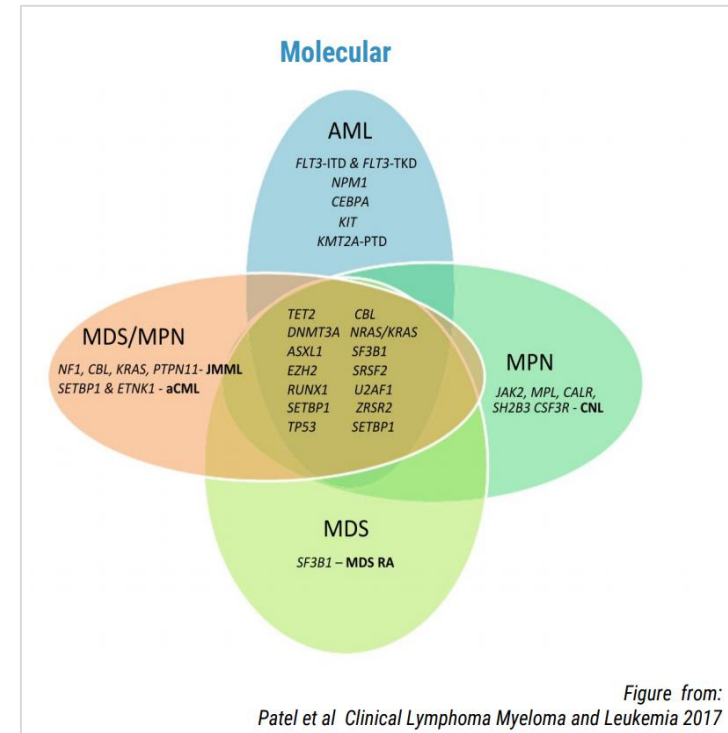
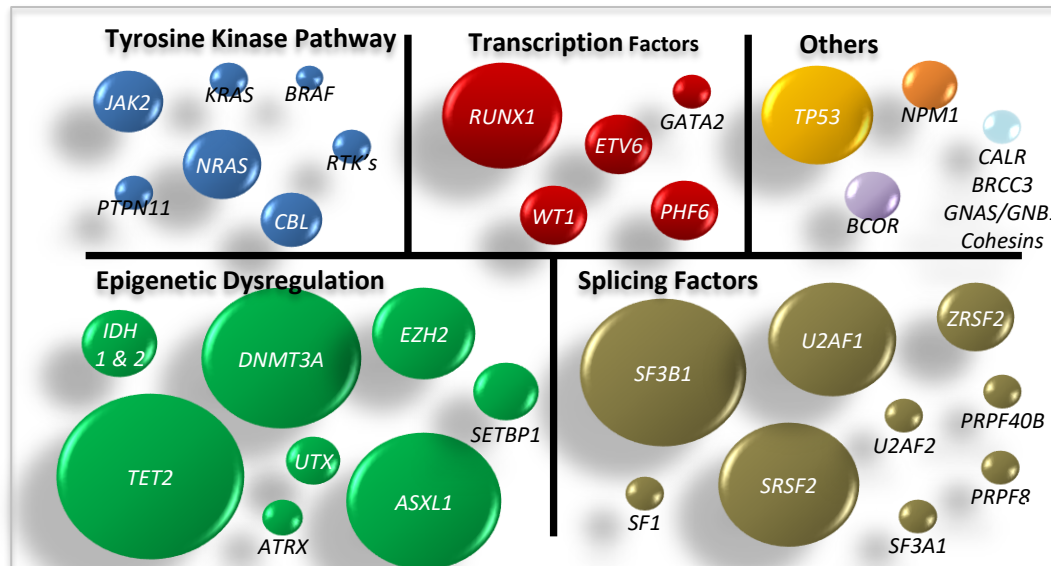


Figure from:
Patel et al Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia 2017



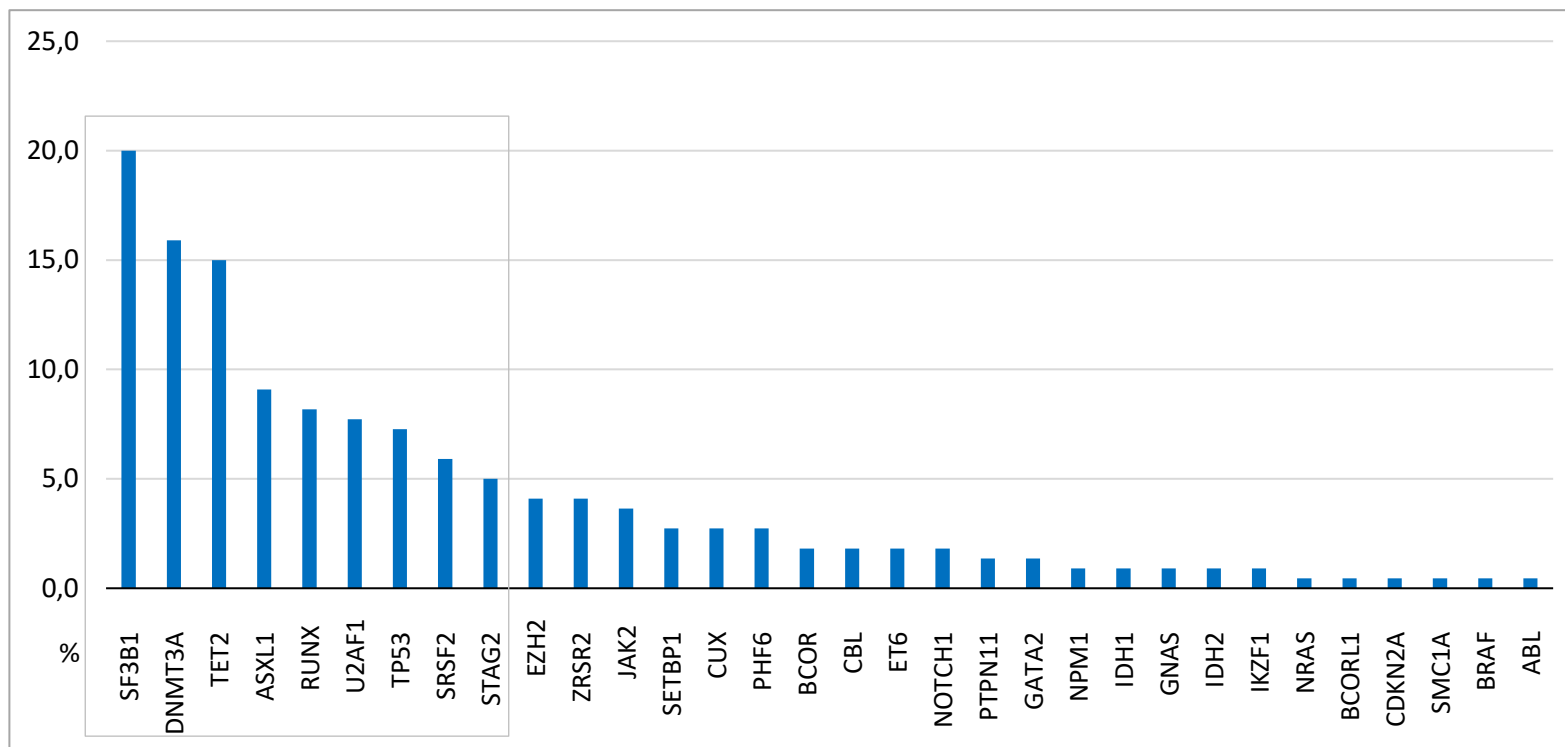
Bejar R

PACIENTI S LOWER-RISK

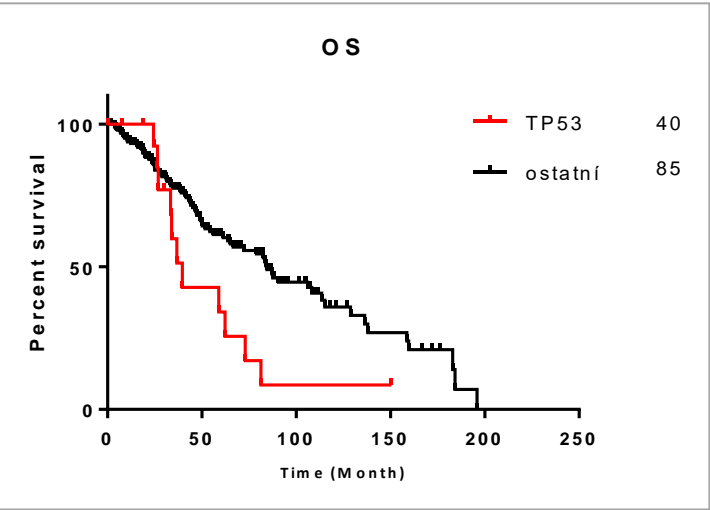
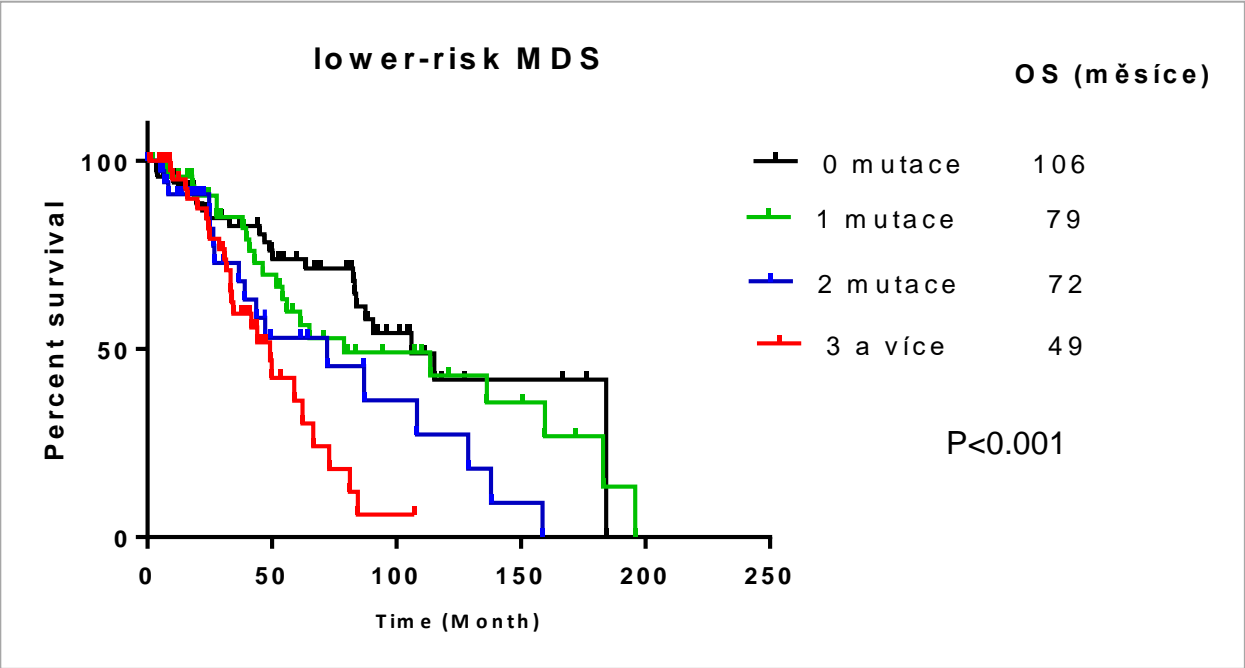
PATIENT CHARACTERISTICS AT THE TIME OF DIAGNOSIS	
počet pacientů	220
Age median (range)	64 (20-86)
Gender	
Male	111 (50.5%)
Female	109 (49.5%)
Clinical data	Median (range)
Marrow blasts %	2 (0-9.8)
Hemoglobin (g/l)	97 (51-161)
Neutrophil count (10 ⁹ /l)	1.8 (0.1-11.9)
Platelets count (10 ⁹ /l)	186 (1-1115)
Cytogenetics	
Very good	3 (1.4%)
Good	193 (87.7%)
Intermediate	23 (10.5%)
Poor	1 (0.5%)
WHO 2016 category	
MDS-MLD	115 (52.3%)
Isolated 5q-	39 (17.7%)
MDS-SLD	23 (10.5%)
MDS-RS	22 (10%)
MDS-EB-1	20 (9.1%)
MDS-EB-2	1 (0.5%)

IPSS	
Low	101 (46.0%)
Intermediate I	119 (54.0%)

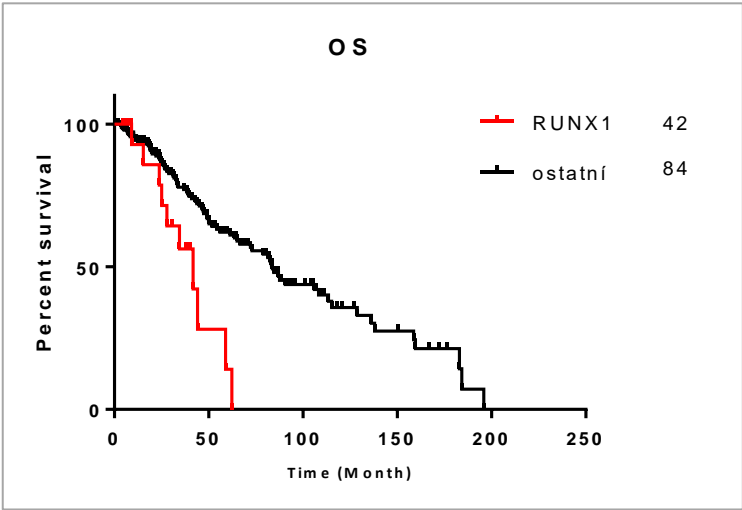
Celkem mutací: 338
 Průměr mutací na pacienta: 1.5
 Detekované mutace : 142 (65 %)



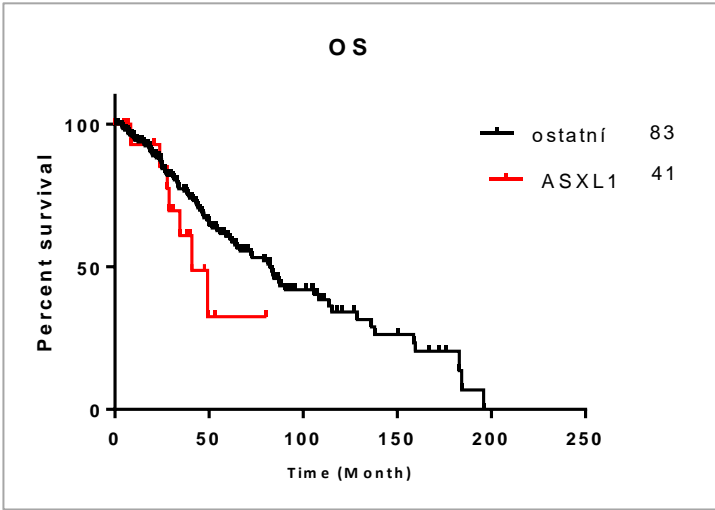
- ✓ 20 % pacientů s del(5q) + mutace v *TP53*; 23 % MDS del(5q)
- ✓ 77 % pacientů s RS mutace v *SF3B1*
- ✓ pacienti s *RUNX1* mají další mutace, Ø 4 mutace; vyšší % blastů (5%)
- ✓ pacienti s *ASXL1* mají další mutace, Ø 4 mutace; vyšší % blastů (4%)

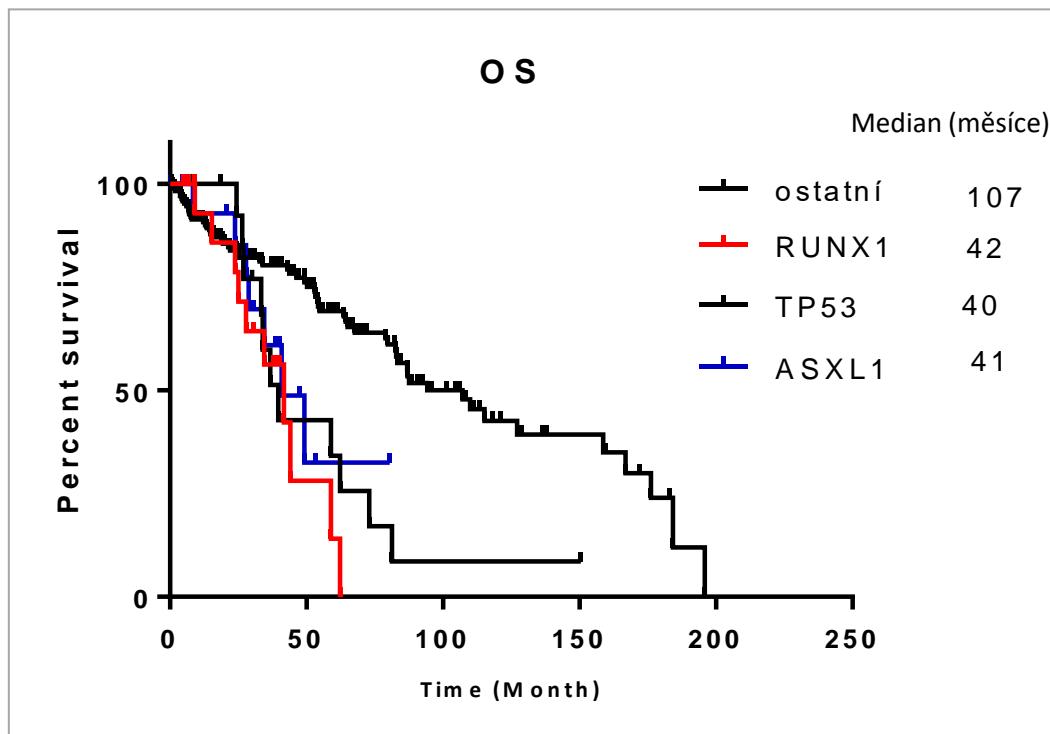


2 pacienti TP53 + RUNX1

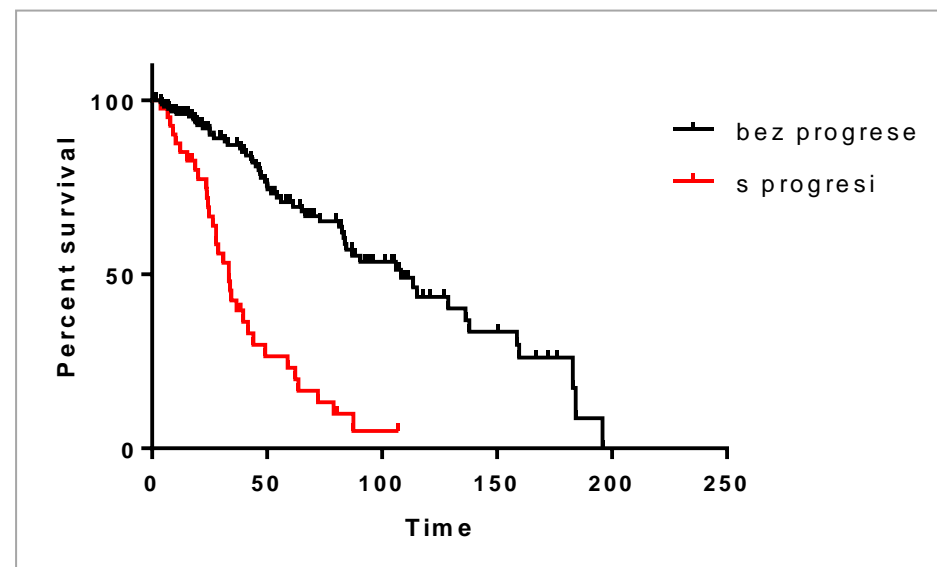


7 pacientů RUNX1 + ASXL1



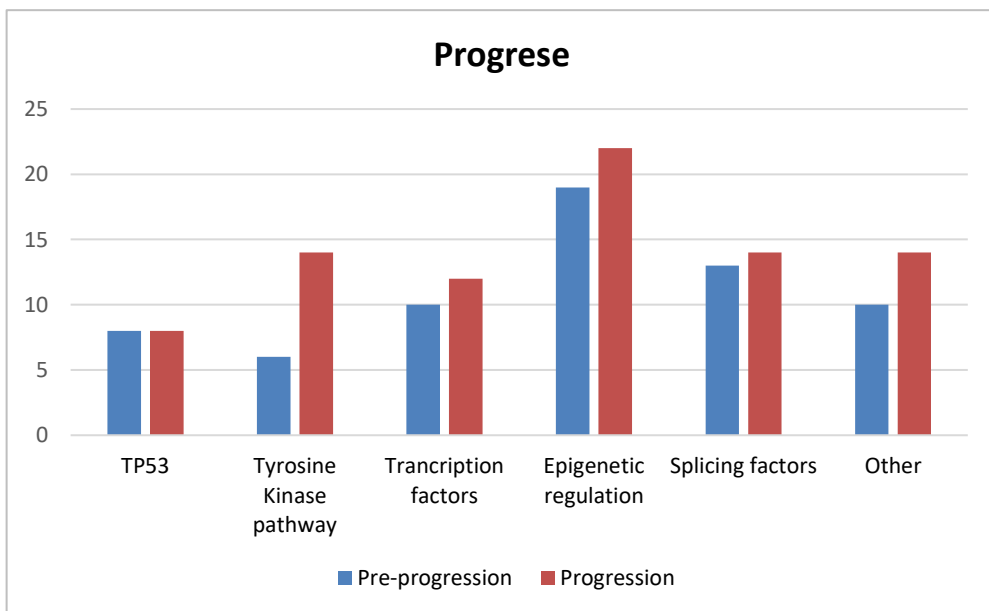
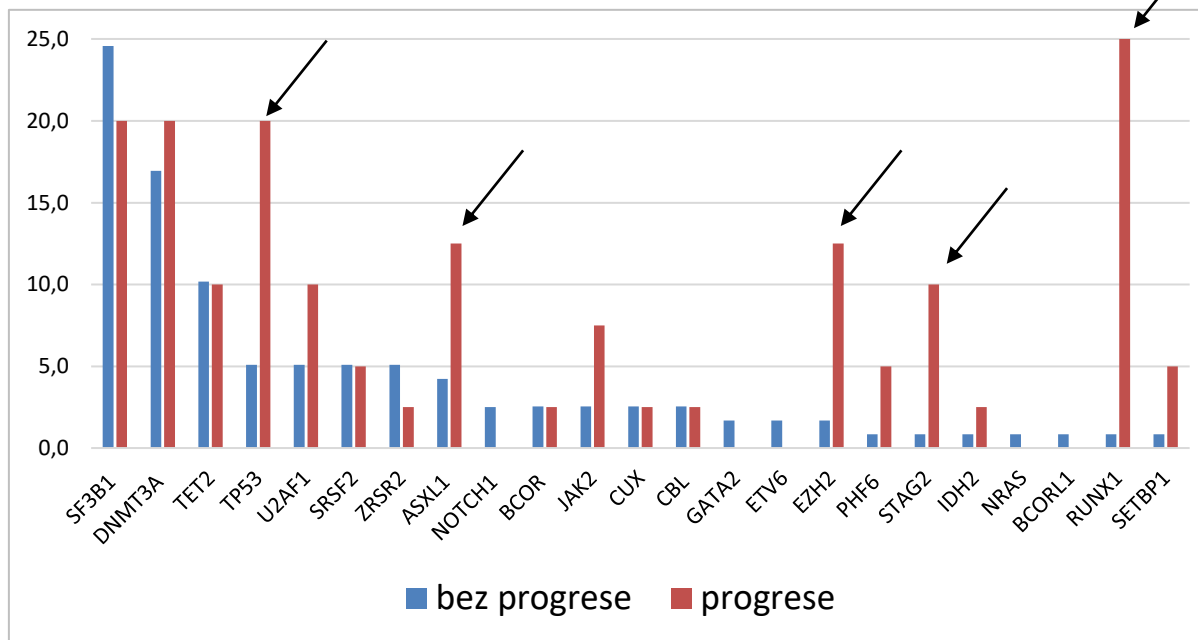


PATIENT CHARACTERISTICS AT THE TIME OF DIAGNOSIS		
	group A - progression	group B - non progression
Number of patients	40	180
Age median (years) (range)	67 (28.2-82.6)	63 (20.8-85.3)
Gender		
Male	22 (55%)	89 (49.4%)
Female	18 (45%)	91 (50.6%)
Clinical data	Median (range)	Median (range)
BM blasts (%)	4 (0.4-8.6)	1.8 (0-9.8)
Hemoglobin (g/dL)	10 (7.5-14.6)	98 (51-161)
ANC (10 ⁹ /L)	2 (0.1-7.5)	1.8 (0.3-11.9)
Platelets (10 ⁹ /L)	164 (15.0-406.0)	198 (2.0-1115.0)
Cytogenetics		
Very good	1 (2.5%)	3 (1.7%)
Good	35 (87.5%)	158 (87.8%)
Intermediate	4 (10.0%)	18 (10.0%)
Poor	0 (0.0%)	1 (0.6%)
IPSS		
Low	15 (37.5%)	86 (47.8%)
Intermediate I	25 (62.5%)	94 (52.2%)



53 % pacientů s progresí do 5 let od data DG mají mutace *TP53*, *RUNX1* nebo *ASXL1*

Skupina bez progresu X s progresí v době diagnózy

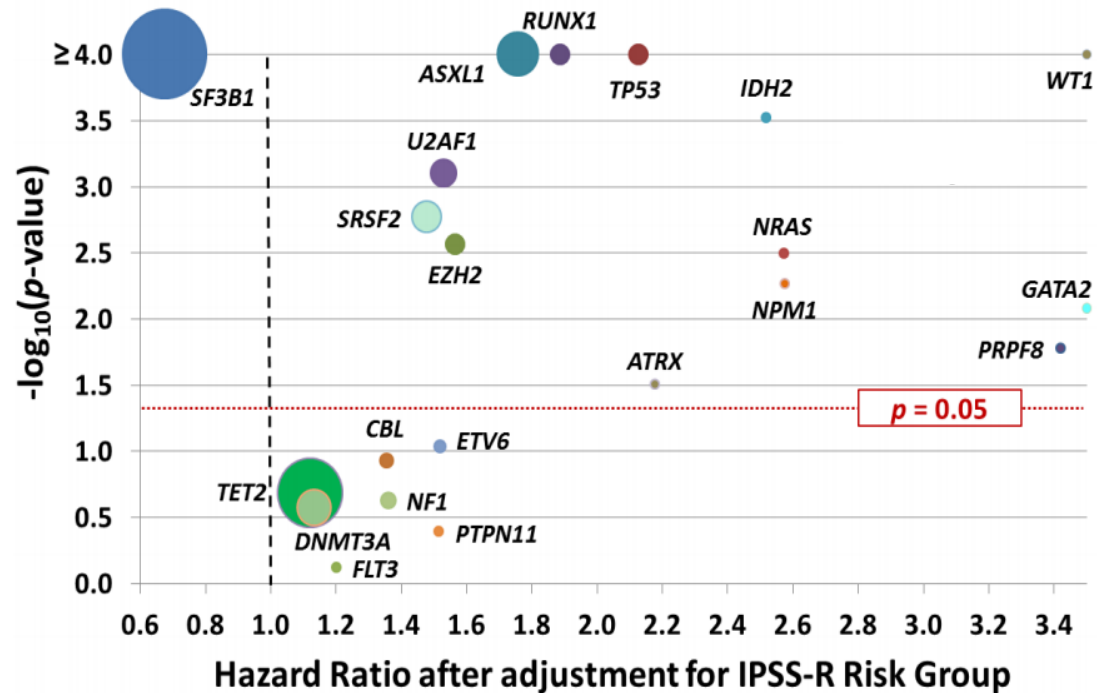


Tyrosine kinázy: *PTPN11, NRAS, KRAS*

Epigenetické regulace: *SETBP1, ASXL1*

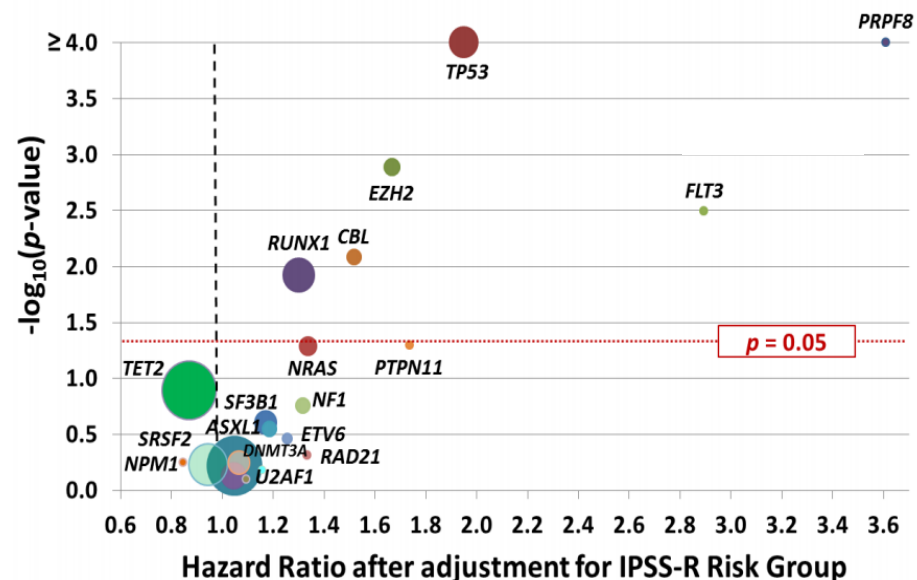
Transkripční faktory: *RUNX1, EZH2, GATA2*

Prognostic Mutations by Blast % (<5%)



Bejar R, MDS foundation

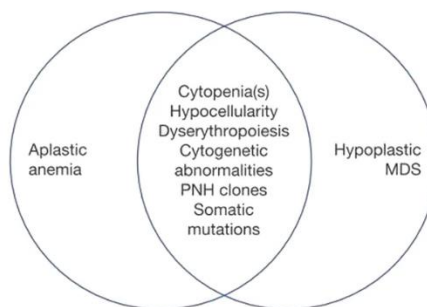
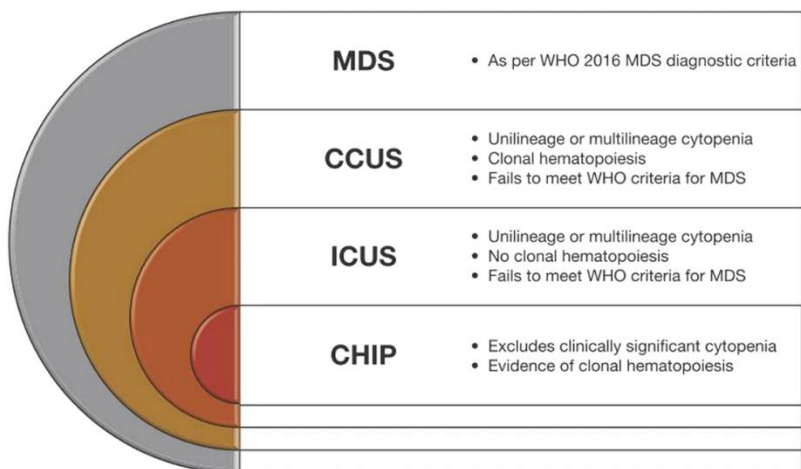
Prognostic Mutations by Blast % (5-30%)



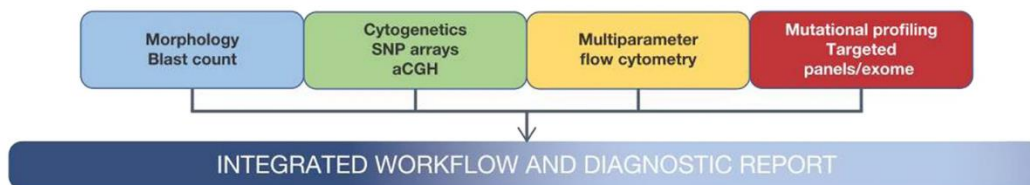


Klonální hematopoéza: 10% osob starších 65 let

Mutace “**DTA**”: 3 geny - DNMT3A, TET2 a ASXL1.
Somatické mutace jsou spojeny se zvýšeným rizikem hematologické malignity, úmrtí na kardiovaskulární onemocnění a úmrtnosti ze všech příčin.



CCUS – klonální cytopenie neurčitého významu
ICUS - idiopatická cytopenie neurčitého významu
CHIP - klonální hematopoéza neurčitého významu



Mufti GJ, *Leukemia*, 2018

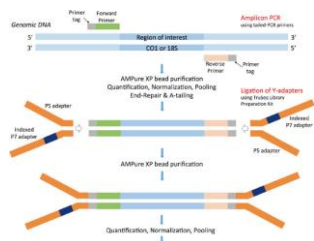
POSTUP vyšetření NGS – myeloidní panel

Příprava vzorku



½ dne

Tvorba knihovny



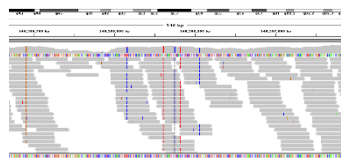
2 dny

Sekvenace

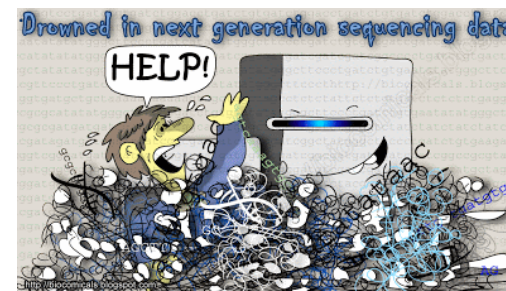


1 den – práce přístroje

Analýza dat



½ dne



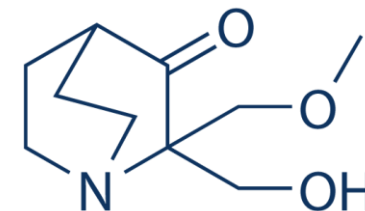
Vyhodnocení dat



4-5 hodin jeden vzorek
(15-25 variant/pacient)



Přesná, cílená léčba

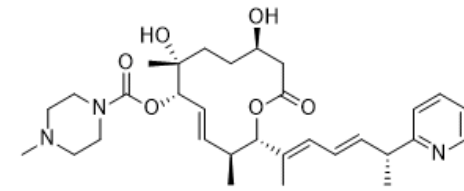


APR-246 (analog PRIMA-1): nová, malá molekula, která kovalentně modifikuje základní doménu mutovaných forem buněčného nádorového antigenu p53 prostřednictvím alkylace thiolových skupin.

Cílem je nastartování apoptózy a potlačení maligního fenotypu.
Protinádorová terapie – reaktivace jeho neaktivní mutované formy.

Randomizovaná studie fáze II s APR-246 a azacitidinem versus azacitidin
53 patients (34 very high IPSS-R a 19 AML).
56 % CR v 6 cyklech s hlubokou molekulární remisi.

Randomizovaná studie fáze III s APR-246 a azacitidinem versus azacitidin .



Heterozygotní somatické mutace v genech kódujících RNA sestřihové faktory SF3B1, U2AF1, SRSF2 nebo ZRSR2 indukují aberantní sestřih v rakovinných buňkách a patří mezi nejčastější mutace u pacientů s MDS, AML nebo CMML.

H3B-8800: je orálně dostupná malá molekula, která se váže na komplex **SF3b** a vyvolává alternativní změny sestřihu v buňkách.

Klinická studie fáze I

- nebylo dosaženo žádného objektivního CR ani PR
- 14 % zařazených pacientů pozorovány snížené požadavky na transfuzi RBC nebo trombocytů.



Enasidenib IDH2

Ivosidenib IDH1



Germinální mutace

- U části MDS pacientů se předpokládá existence vrozené predispoziční mutace.
- Syndromy dědičného selhání KD mohou být stanoveny až v dospělosti, protože hematologické nálezy a vrozené anomálie mohou být velmi nenápadné
- Nutné genetické poradenství.

Genes Tested

AP3B1	BRCA2 (FANCD1)	BRIP1 (FANCI)	CSF3R	CXCR4
DKC1	ELANE (ELA2)	ERCC4 (FANCG)	FANCA	FANCB
FANCC	FANCD2	FANCE	FANCF	FANCG
FANCI	FANCL	FANCM	G6PC3	GATA1
GATA2	GFI1	HAX1	LAMTOR2 (ROBLD3)	LYST
MPL	NHP2 (NOLA2)	NOP10 (NOLA3)	PALB2 (FANCN)	RAB27A
RAC2	RAD51C (FANCO)	RBM8A	RMRP	RPL5
RPL11	RPL15	RPL26	RPL35A	RPS7
RPS10	RPS17	RPS19	RPS24	RPS26
RTEL1	SBDS	SLC37A4	SLX4 (FANCP)	SRP72
TAZ	TERC (hTR)	TERT	TINF2	USB1
VPS13B	VPS45	WAS	WRAP53 (TCAB1, WDR79)	

PROSBA

Studium genetické podstaty myeloidních malignit s familiárním výskytem.

Pacient s myeloidní malignitou a pozitivní rodinnou anamnézou → vzorek

4ml PK v EDTA

monika.belickova@uhkt.cz



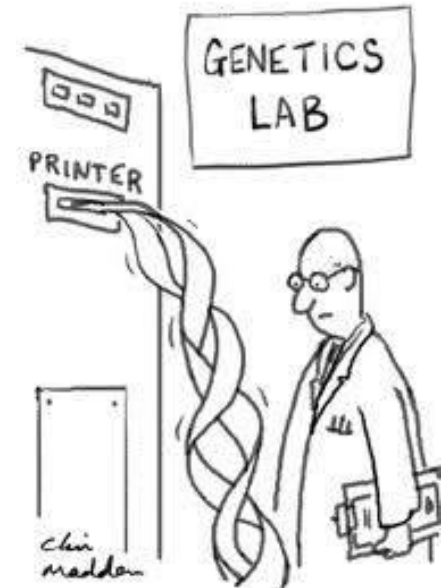
--- VYUŽITÍ MUTAČNÍHO PROFILOVÁNÍ

- + Poskytuje prognostické informace, které mohou zpřesnit prognózu přežití a rizika progresu onemocnění.
- + Pomůže odlišit LR-MDS od jiných nemaligních a neklonálních příčin cytopenie.
- + Poskytuje informace o pravděpodobné reakci na terapii (hypomethylační léčba, transplantace).
- + Může identifikovat cíle pro léčbu pomocí "přesných léků,,.
- + Může identifikovat zárodečné mutace a jejich důsledky pro rodiny.
- + V budoucnu může umožnit sledování minimální zbytkové choroby.

- Molekulární testování není všeobecně dostupné.
- Mnoho somatických variant nemá jasný význam, některé varianty mohou být zárodečné .

Děkuji kolegům z Oddělení genomiky ÚHKT za skvělou práci!

I ♥
Genomika



Děkuji za pozornost a přeji hezkou zimu!

