

# Impacto del perfil molecular en la POLICITEMIA VERA

Anna Angona

ICO Girona

Barcelona, 9 noviembre 2023

# Caso clínico 1



Joan 71a. AP: HIV, LES

Marzo 2020: PV *JAK2* mutada (74%)

Inicia hidroxiurea

# Caso clínico 1



Joan 71a. AP: HIV, LES

Marzo 2020: PV *JAK2* mutada (74%)

Inicia hidroxiurea

Octubre 2022: LA post PV

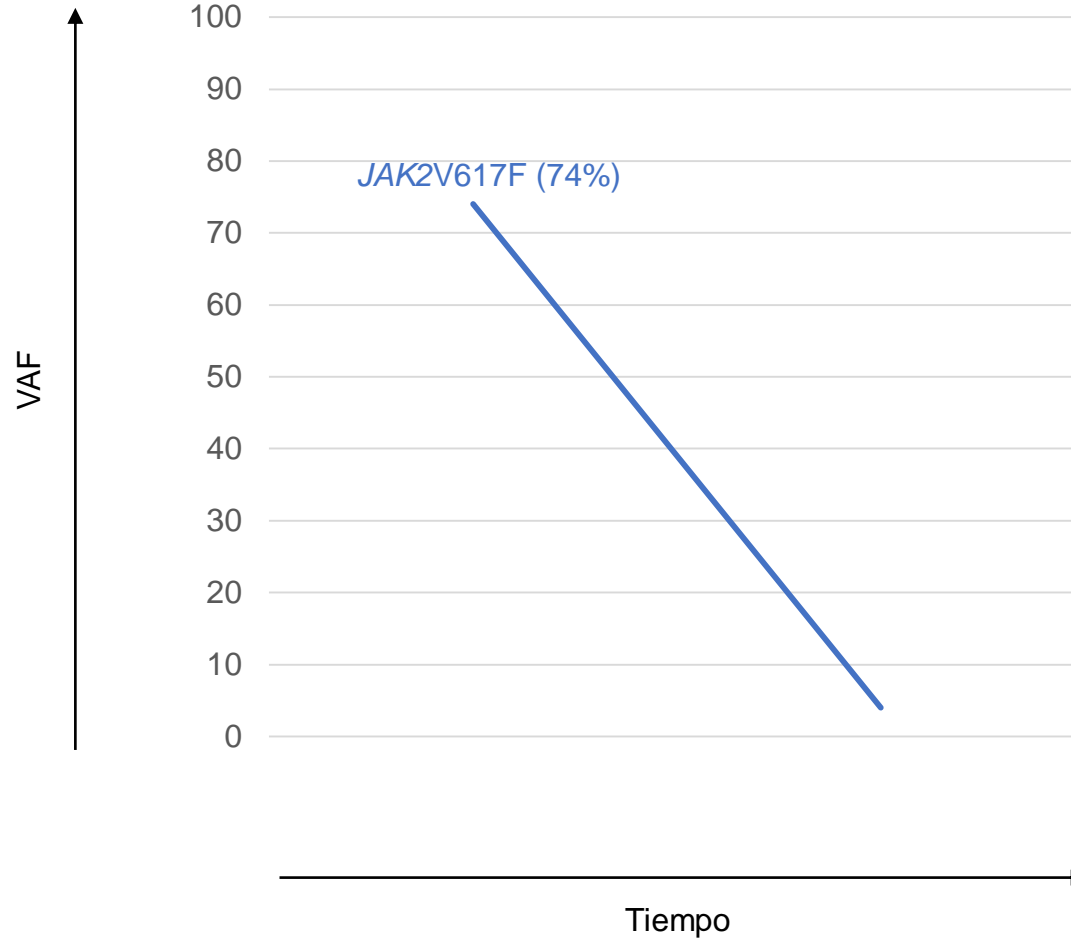
# Caso clínico 1

Joan 71a. AP: HIV, LES

Marzo 2020: PV *JAK2* mutada (74%)

Inicia hidroxurea

Octubre 2022: LA post PV



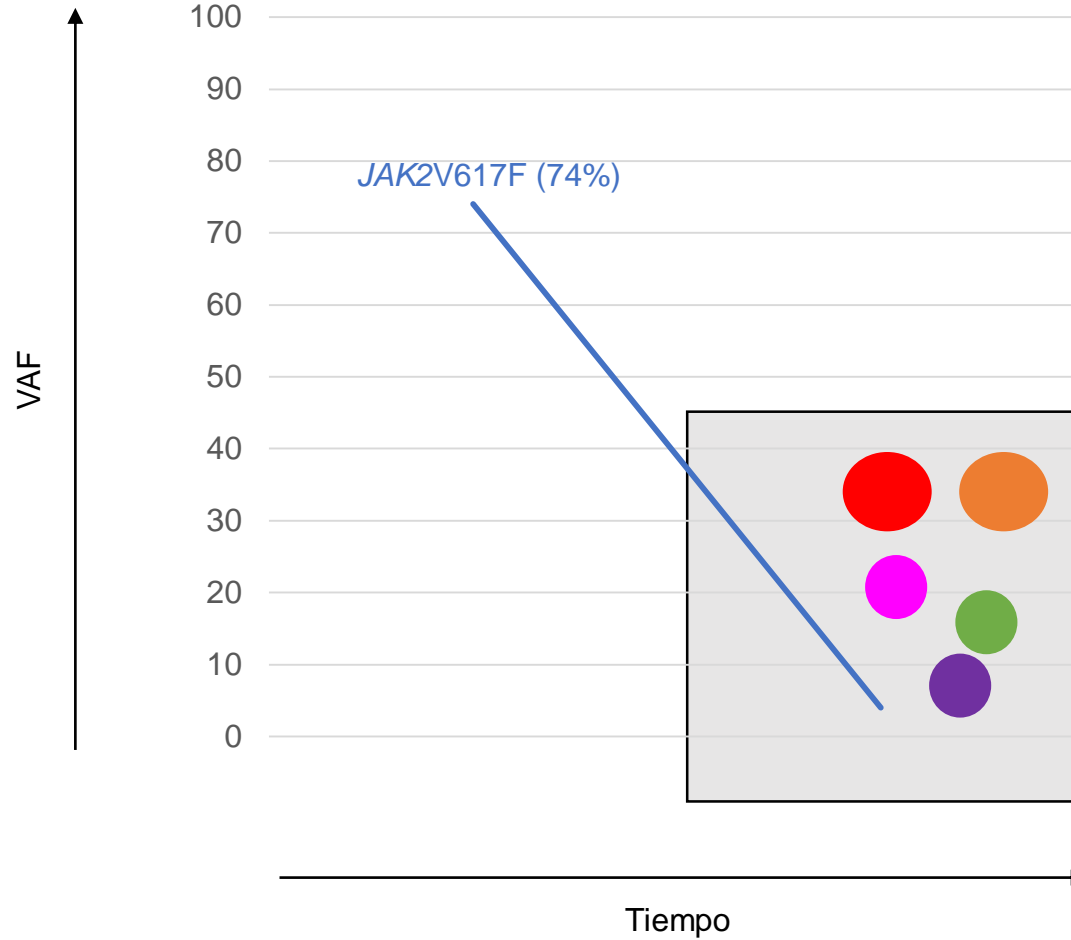
# Caso clínico 1

Joan 71a. AP: HIV, LES

Marzo 2020: PV *JAK2* mutada (74%)

Inicia hidroxiurea

Octubre 2022: LA post PV



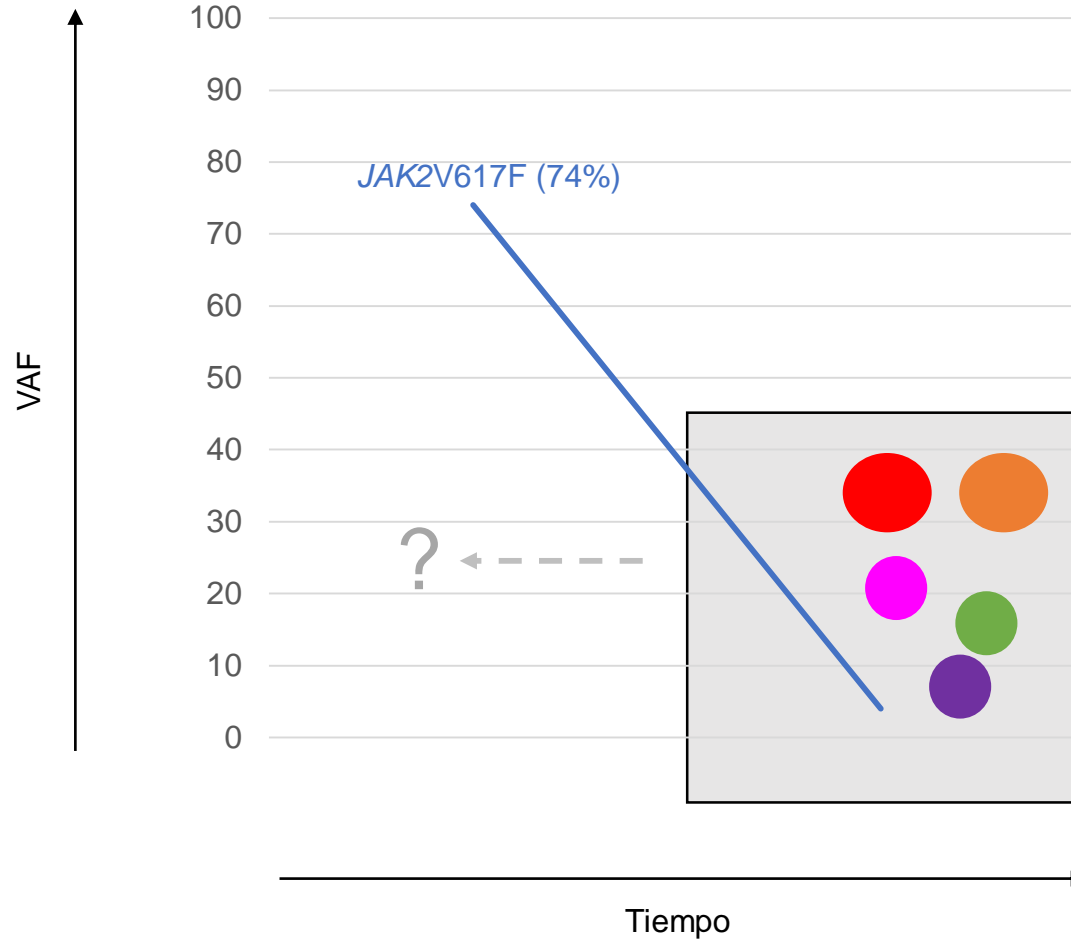
# Caso clínico 1

Joan 71a. AP: HIV, LES

Marzo 2020: PV *JAK2* mutada (74%)

Inicia hidroxurea

Octubre 2022: LA post PV

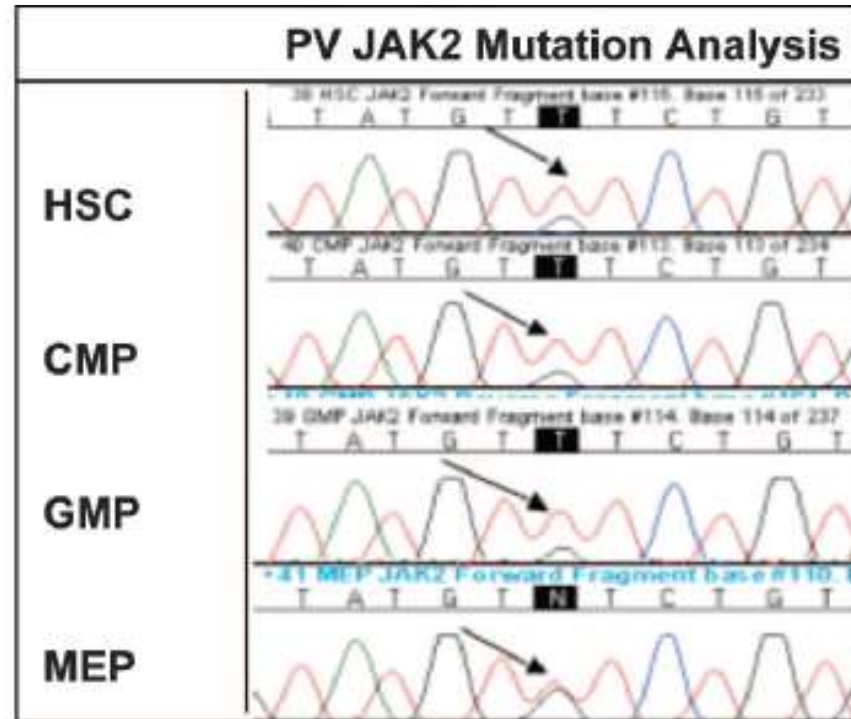


*SRSF2*  
*RUNX1*  
*EZH2*  
*NRAS*  
*TP53*

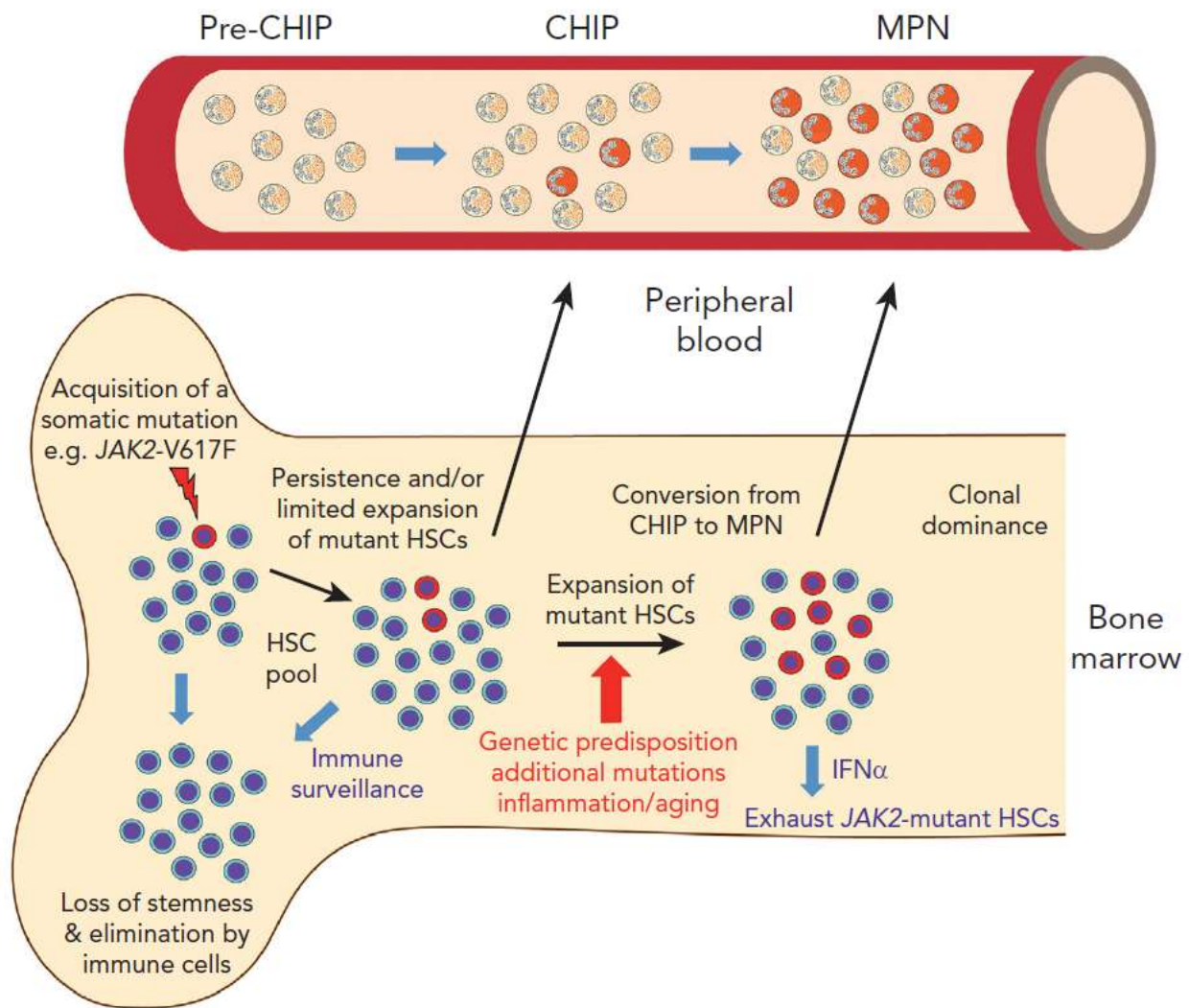
Mutación *driver* : JAK2V617F

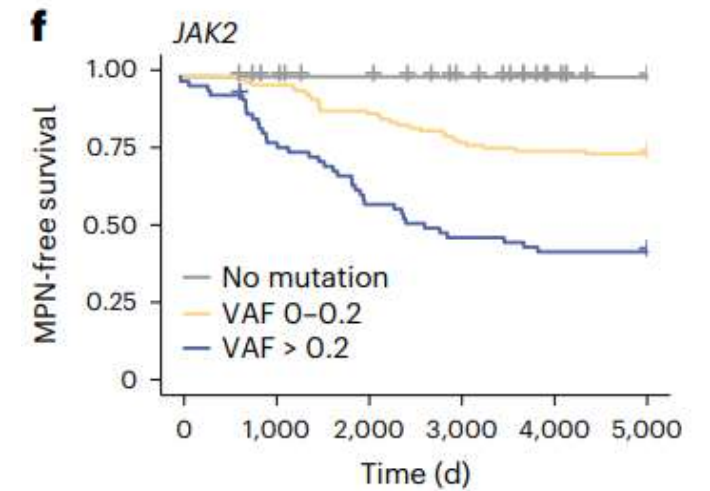
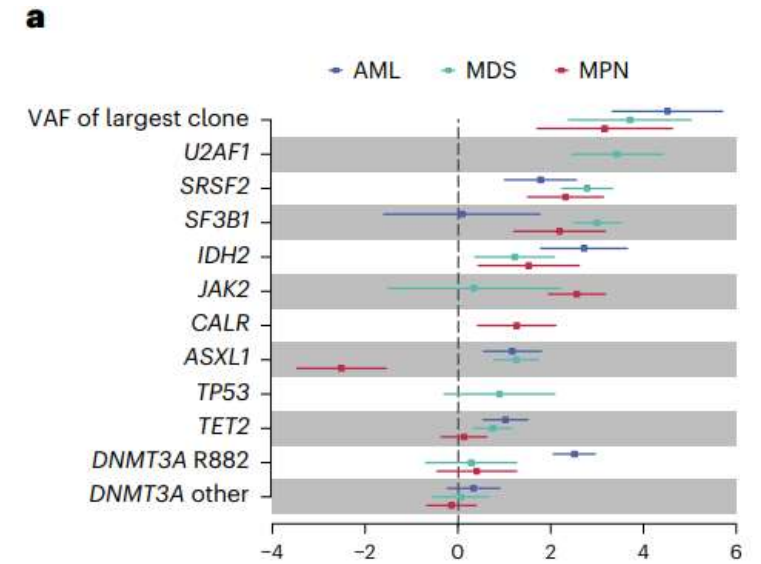
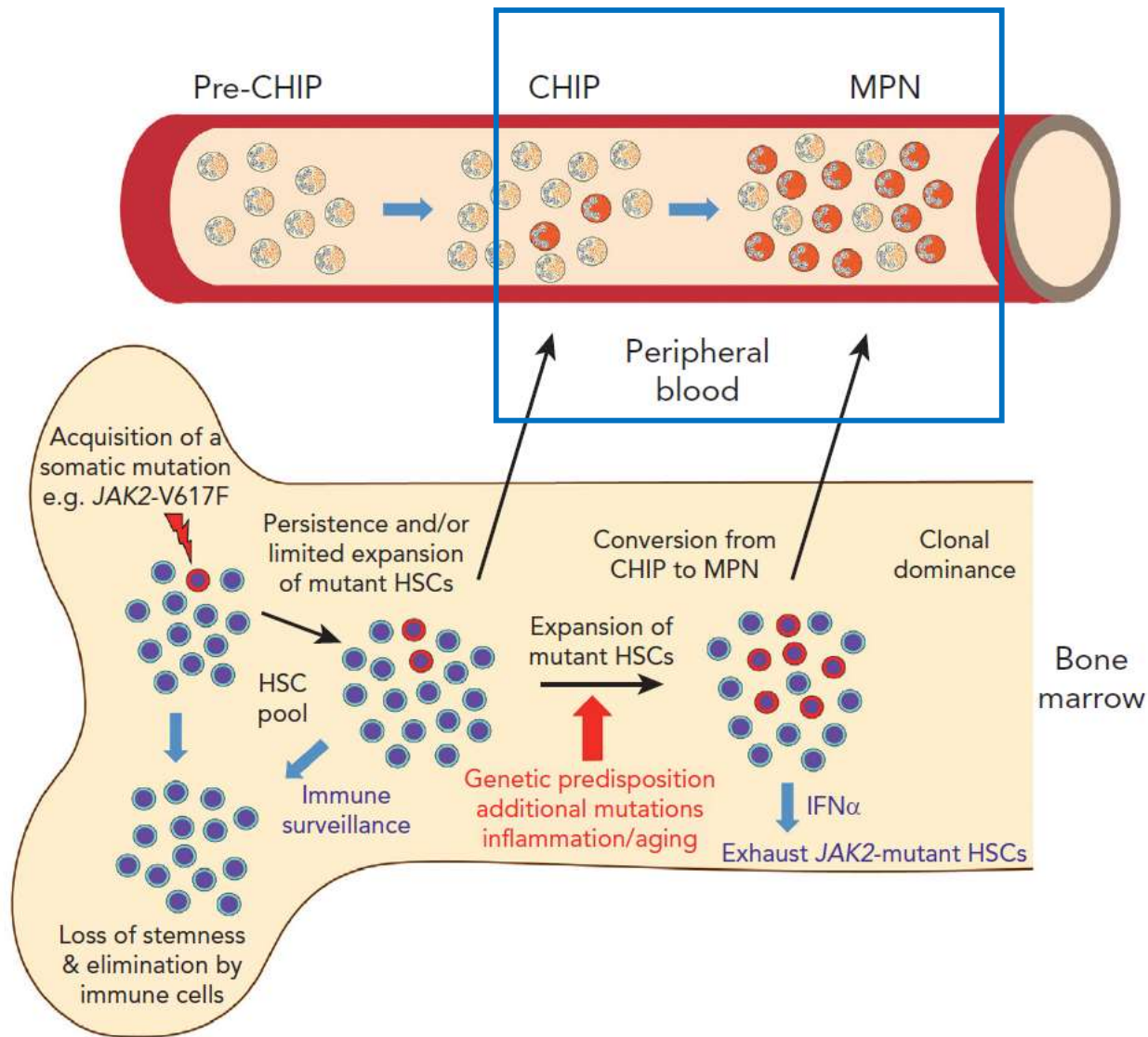
# Hematopoyesis en las NMP *JAK2V617F*

La mutación *JAK2V617F* se ha detectado tanto en progenitores hematopoyéticos obtenidos de cultivos de colonias *in vitro* como en células CD34+ aisladas mediante *cell sorting*

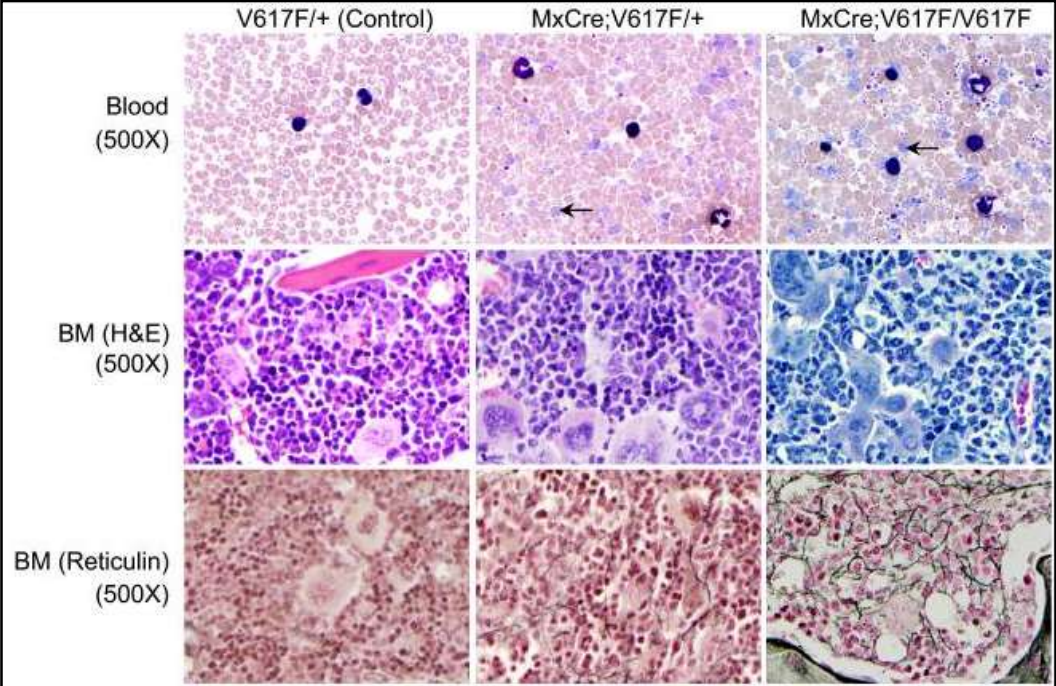
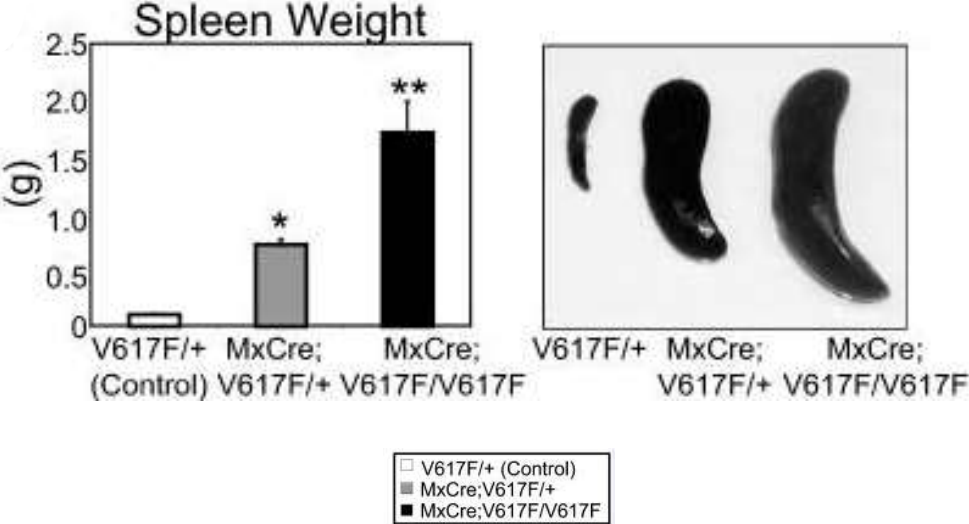




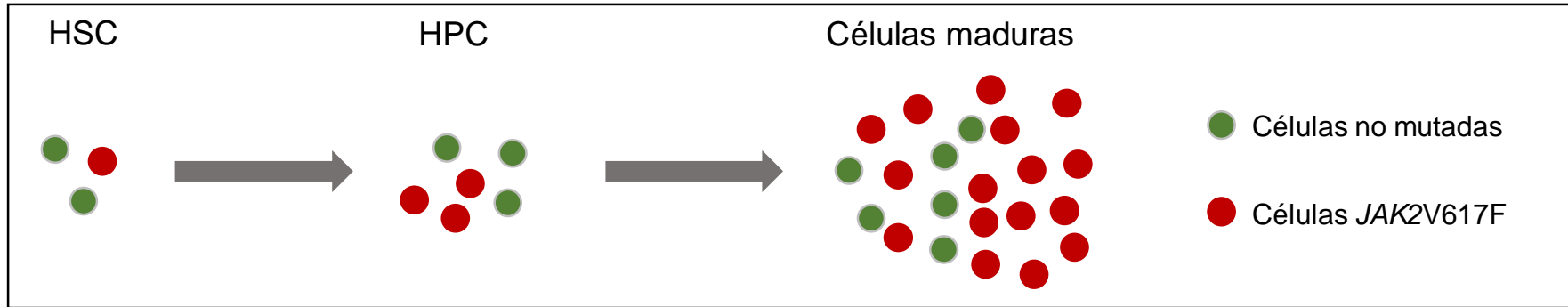




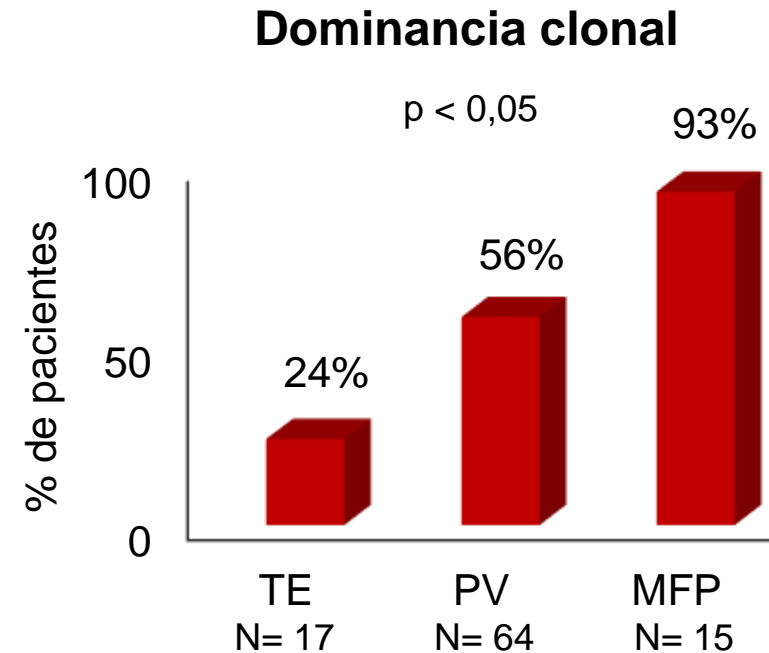
# En modelos murinos la expresión homocigota de *JAK2V617F* influye en el fenotipo de NMP



# Homocigosidad de *JAK2V617F* y dominancia clonal



- TE y PV: porcentaje de progenitores mutados es una minoría de la hematopoyesis (Dupont *et al*, Blood 2007; Gale *et al*, Blood 2007)
- HSC *JAK2*-mutadas no se expande durante la evolución en la TE y PV, pero sí en la MF (Anand *et al*, Blood 2011)



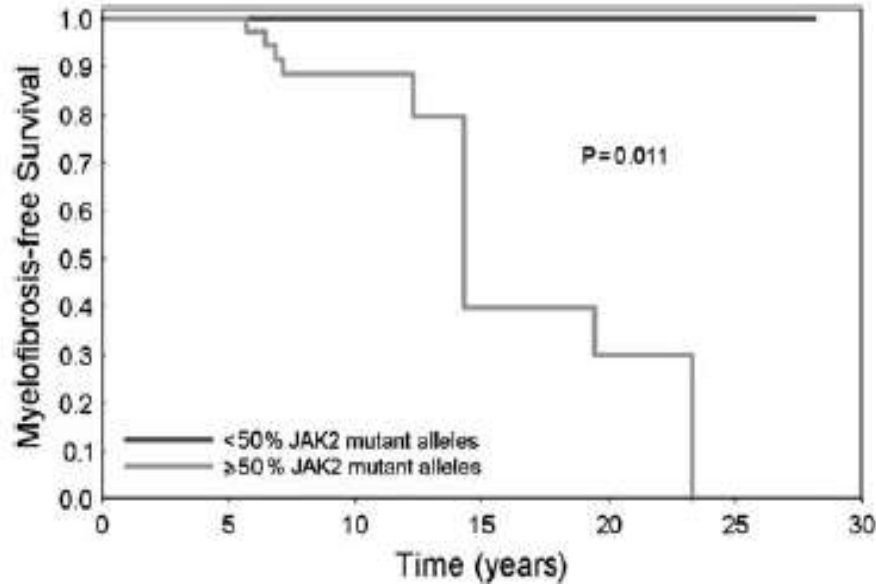
## Carga mutacional de *JAK2V617F* en las HSC, HPC y en los granulocitos de acuerdo con la fase evolutiva de la enfermedad

		Fase crónica temprana n= 26	Fase crónica tardía n= 10	MF post-PV n= 9	<i>p</i>
<b>JAK2V617F (%)</b>	Células CD34+CD38-	12 (6-17)	27 (11-42) <sup>1</sup>	71 (53-89) <sup>2</sup>	< 0,001
	Células CD34+CD38+	20 (14-26)	39 (22-56) <sup>1</sup>	72 (50-87) <sup>2</sup>	< 0,001
	Granulocitos	60 (51-69)	72 (56-89)	77 (61-92,5)	ns
		<b>DOMINANCIA CLONAL (%)</b>			
			10	80	

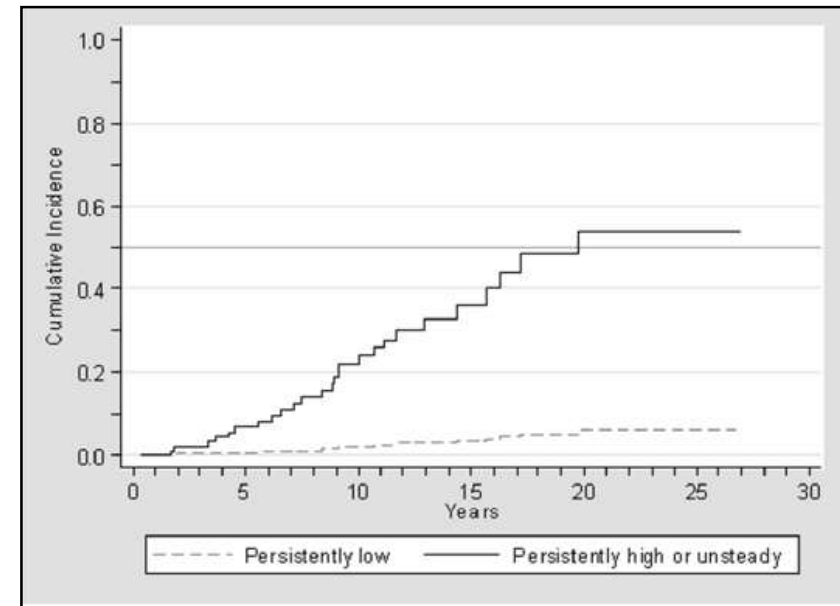
MF post-PV: mielofibrosis post-PV; ns: no significativo. Los resultados se expresan como media (intervalo de confianza 95%). <sup>1</sup> *p* < 0,05 en comparación con fase crónica temprana y MF post-PV. <sup>2</sup> *p* < 0,05 en comparación con fase crónica temprana y fase crónica tardía.

# Carga mutacional de *JAK2V617F*

La carga mutacional de *JAK2V617F* se ha asociado a un aumento del riesgo de transformación a MF en los pacientes con PV



Passamonti *et al*, Leukemia 2010

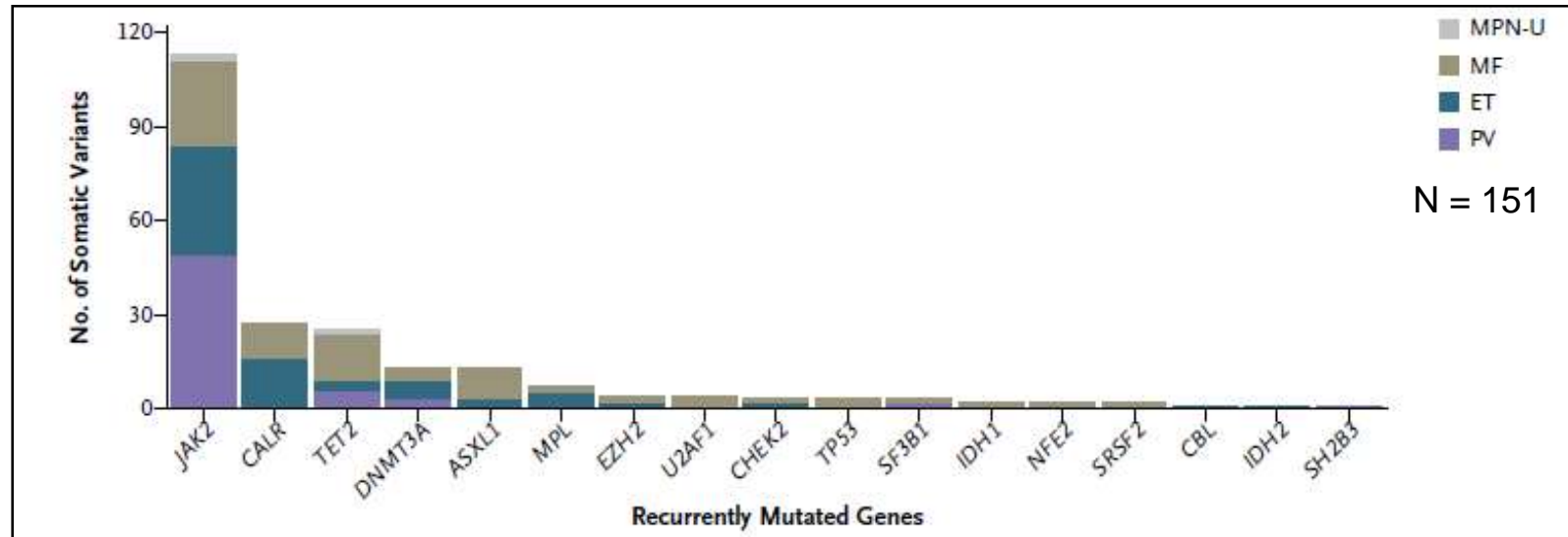


Alvarez-Larrán *et al*, Am J Hematol 2014

# Mutaciones adicionales

Impacto en la supervivencia global y en la transformación a MF y LA en pacientes con PV (y TE)

# Perfil molecular de les NMP Ph neg

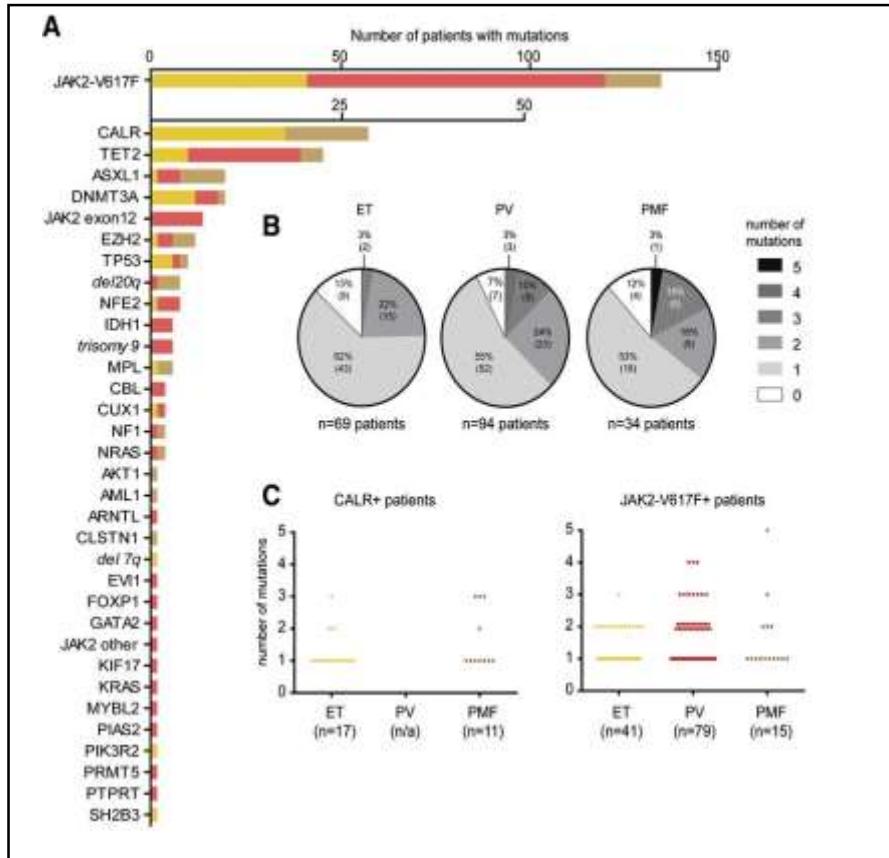


Nangalia *et al*, NEJM 2013

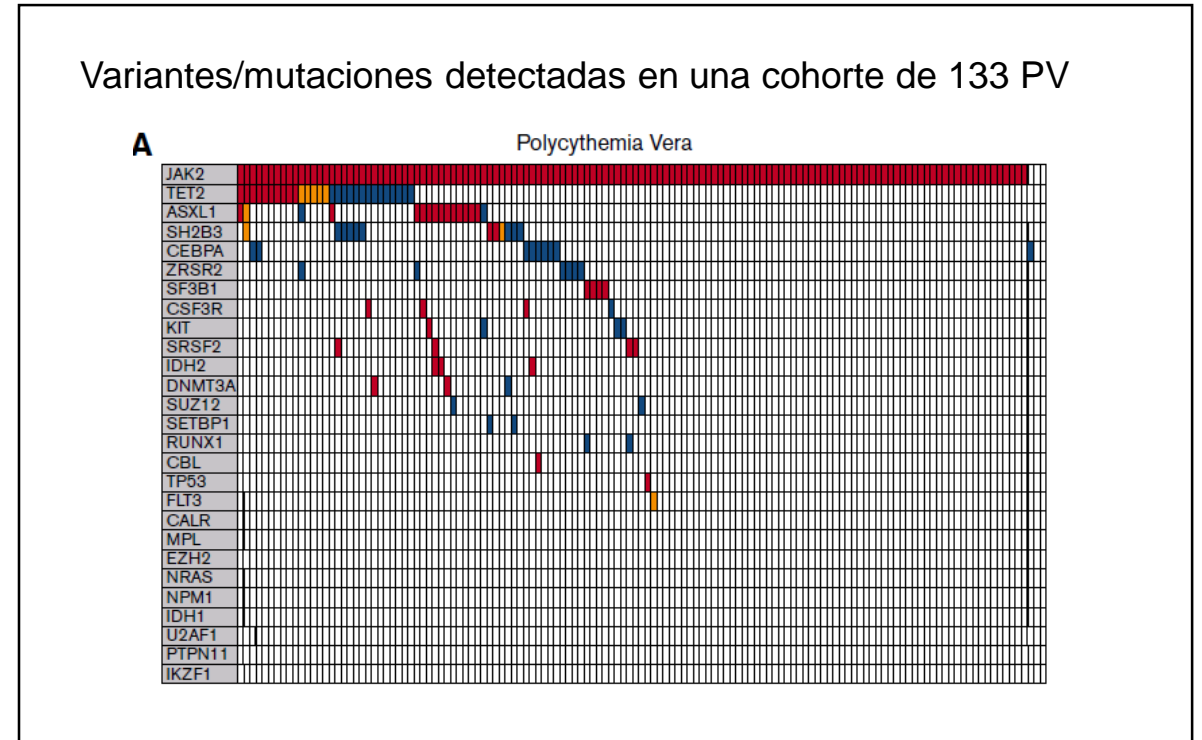
- PV: 6,5 mut/pacient
- TE: 6,5 mut/pacient
- MFP: 13 mut/pacient



# Perfil molecular de las NMP Ph neg



Mutaciones *non-driver* en 41 de 94 pacientes con PV (44%)

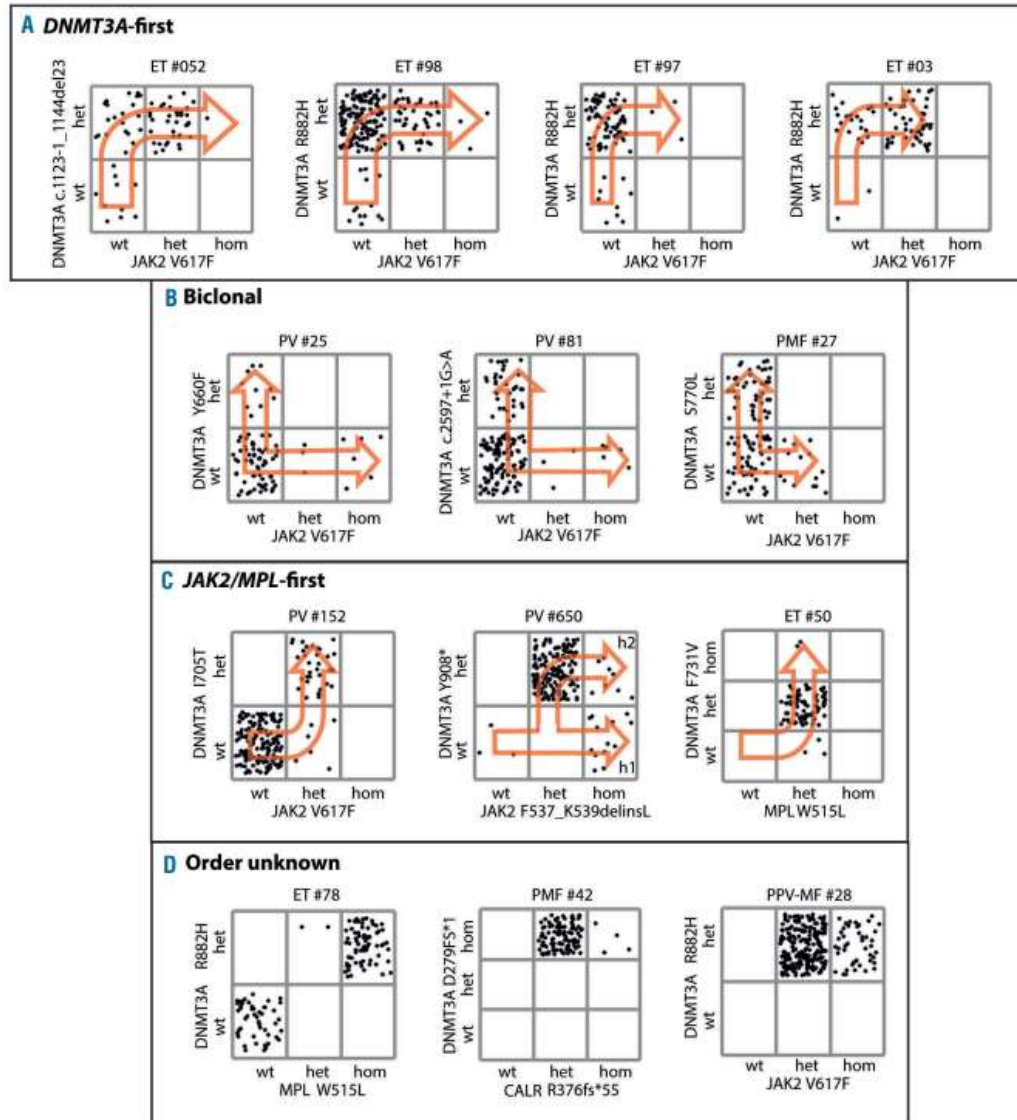


Pacientes con mutaciones en genes *non-driver*: n=70 (52.6%)

1 mut/paciente: 30%  
 2 mut/paciente 20%  
 ≥ 3 mut/paciente: 3%



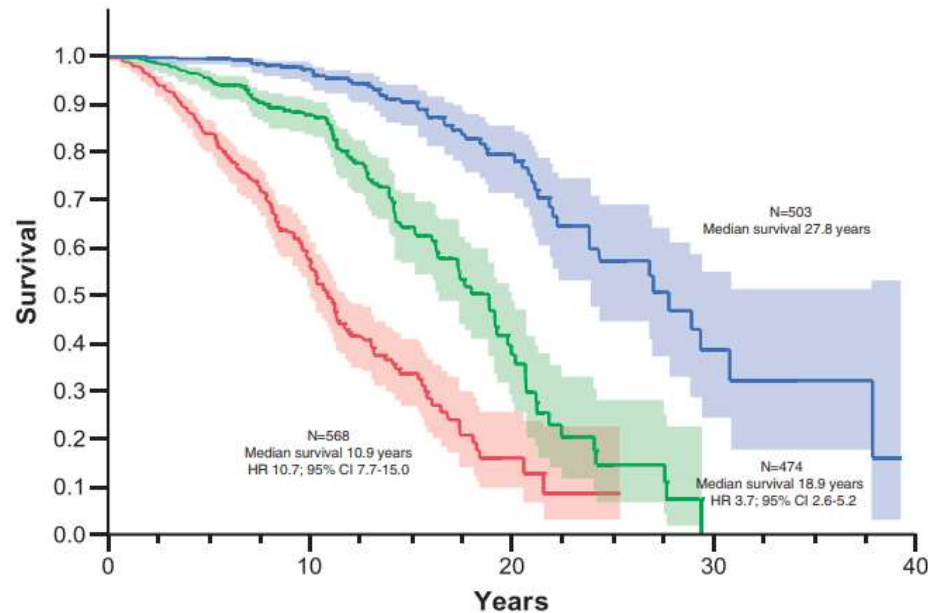
# Coexistencia de mutaciones en *DNMT3A* y *JAK2*



*DNMT3A* first → fenotipo TE

*JAK2* first → fenotipo PV

# Supervivencia en la PV



Edad:

≥ 67 años: 5 puntos

57-66: 2 puntos

Leucocitos ≥  $15 \times 10^9/L$ : 1 punto

Trombosis venosa: 1 punto

**Bajo riesgo: 0 puntos**

**Riesgo intermedio: 1-2 puntos**

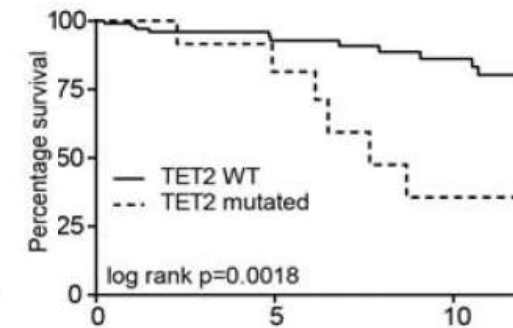
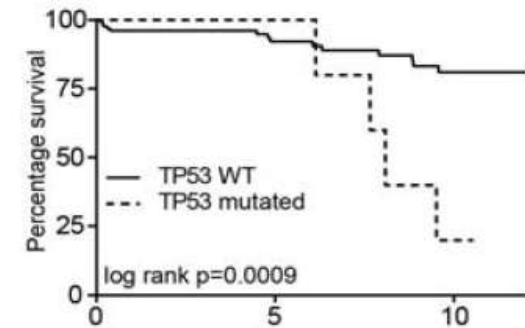
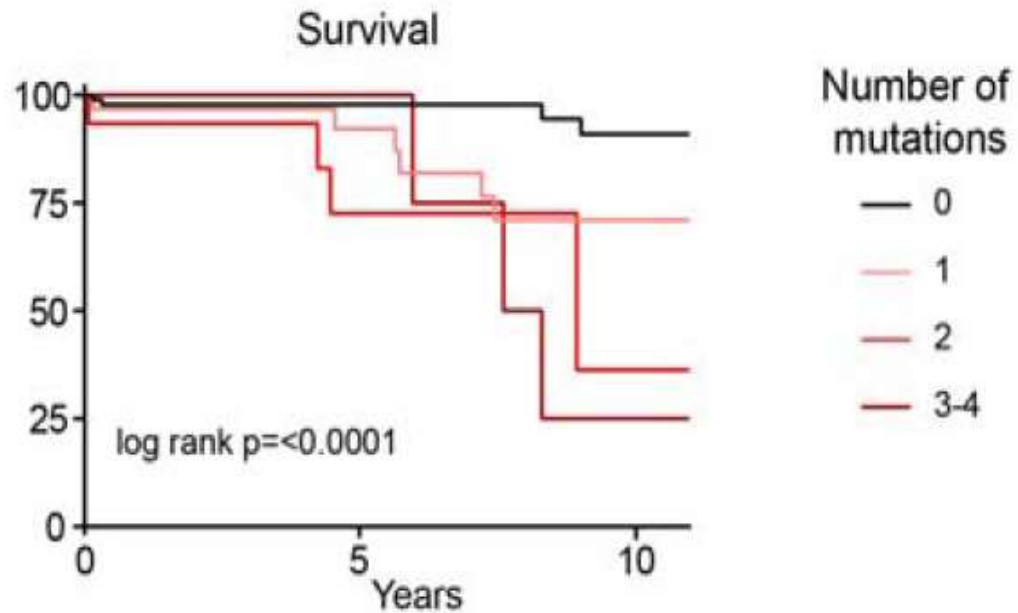
**Alto riesgo: ≥ 3 puntos**

Tefferi *et al.* Leukemia 2013

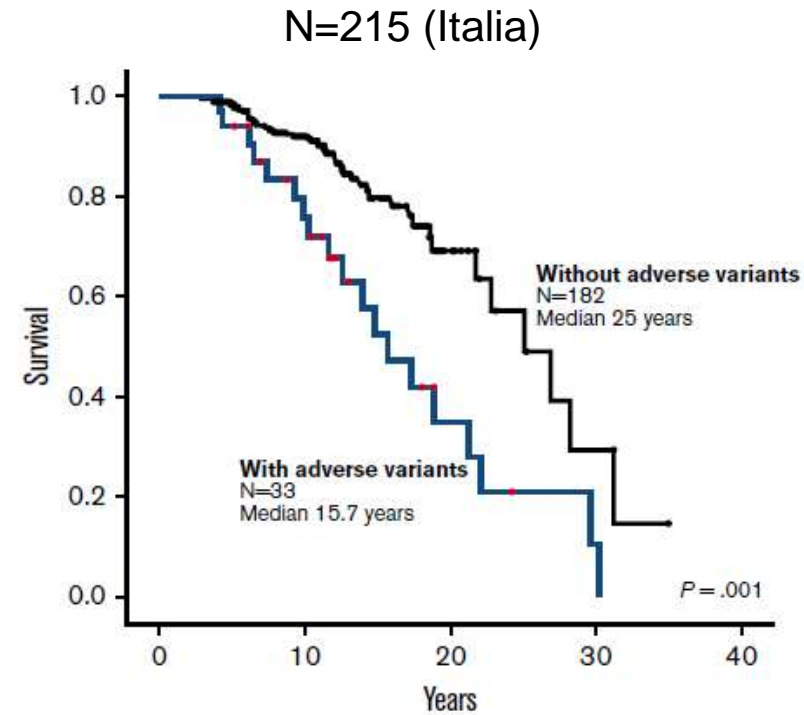
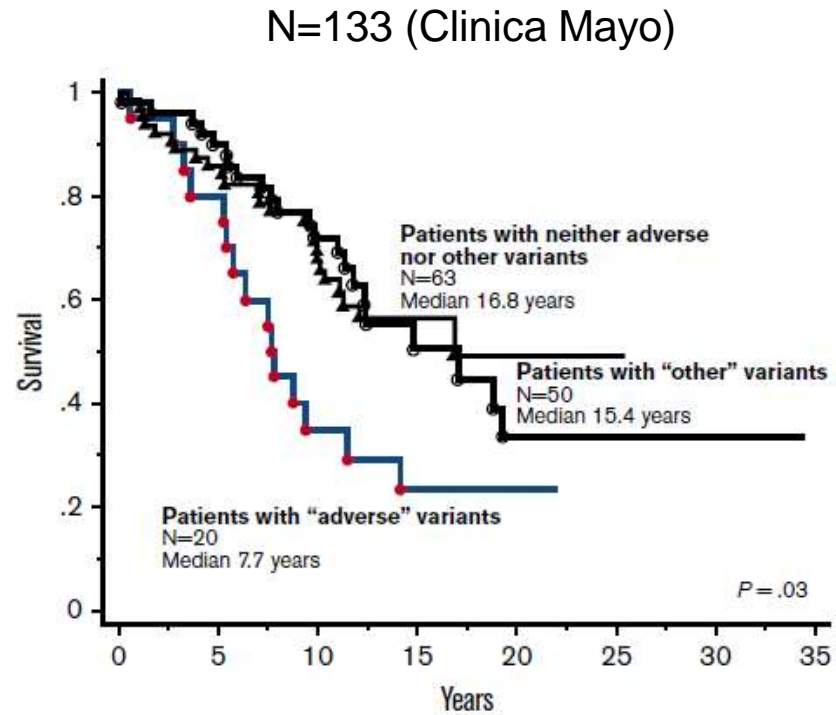
- Prurito hidrogénico (Gangat *et al.* Am J Hematol 2008)
- Leucocitosis (Bonicelli *et al.* Br J Haematol 2013)
- Historia de trombosis (Bonicelli *et al.* Br J Haematol 2013)
- Alteraciones citogenéticas (Tefferi *et al.* Leukemia 2013)
- Fibrosis ≥ 1 (Barbui *et al.* Blood 2012)

# Impacto de las mutaciones adicionales en la supervivencia global

N = 197 (PV, ET, PMF)



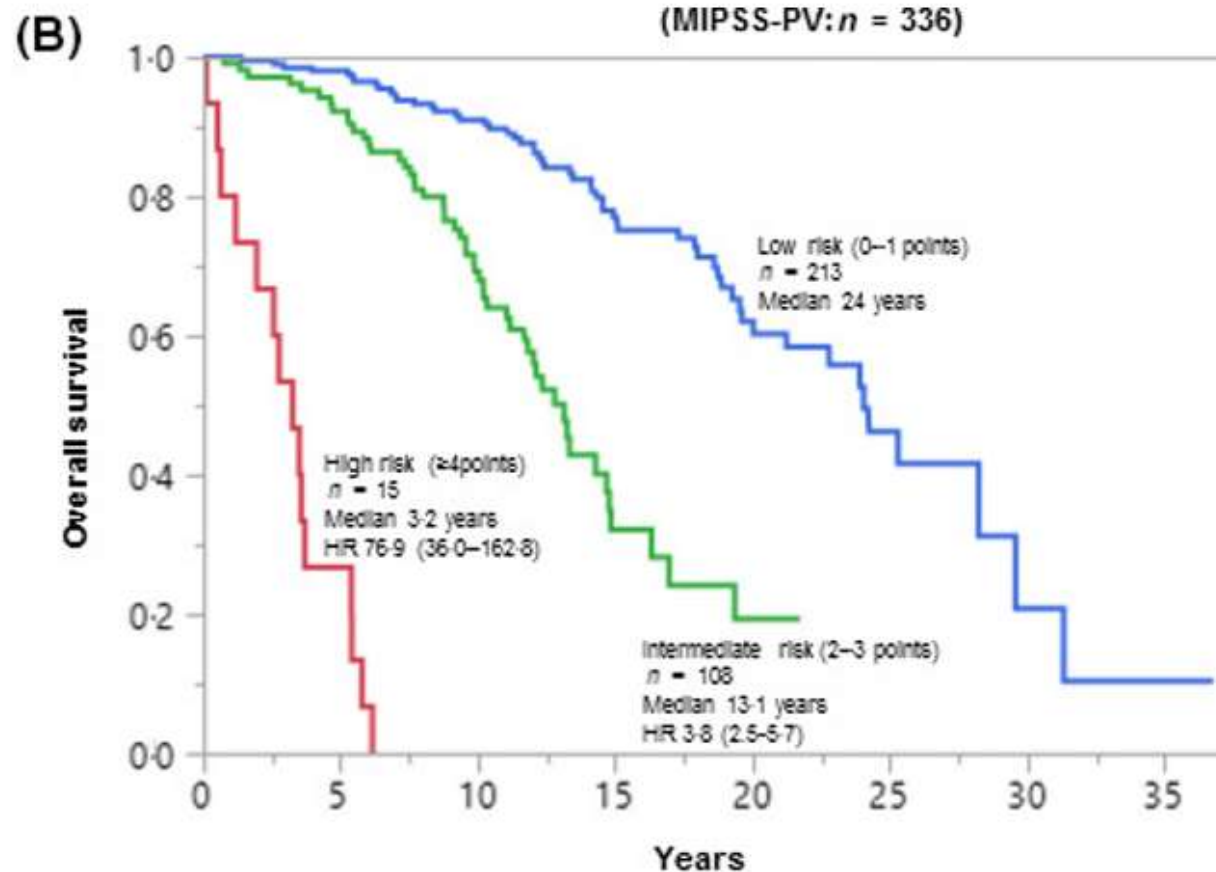
# Impacto de las mutaciones de pronóstico adverso en la supervivencia global



Mutaciones/variantes adversas: *ASXL1*, *SRFS2*, *IDH2*

# MIPSS-PV: impacto mutaciones en *SRSF2*

	TE	PV
OS	<i>SF3B1</i>	
	<i>SRSF2</i>	<i>SRSF2</i>
		<i>IDH2</i>
	<i>EZH2</i>	
LFS	<i>SRSF2</i>	
		<i>IDH2</i>
	<i>TP53</i>	
		<i>RUNX1</i>
	<i>EZH2</i>	
MMF	<i>SF3B1</i>	
	<i>U2AF1</i>	<i>U2AF1</i>
	<i>EZH2</i>	

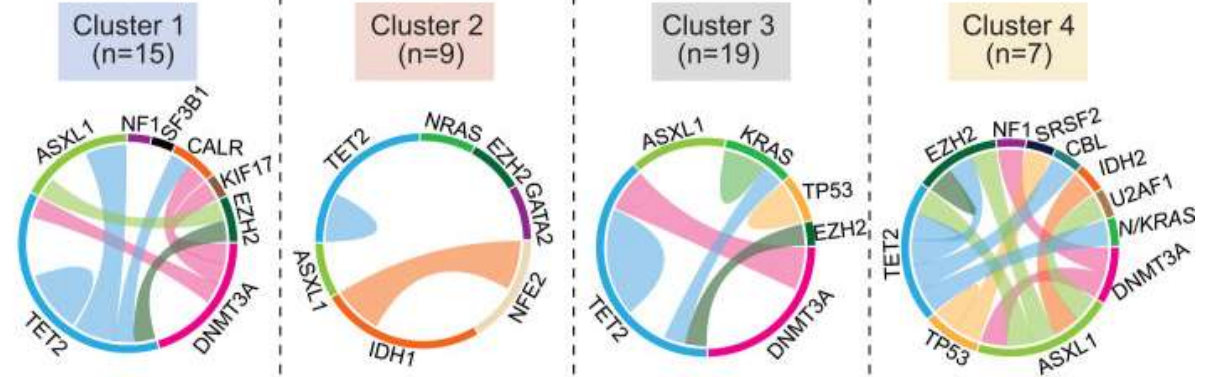


# Coexistencia de mutaciones y orden de adquisición

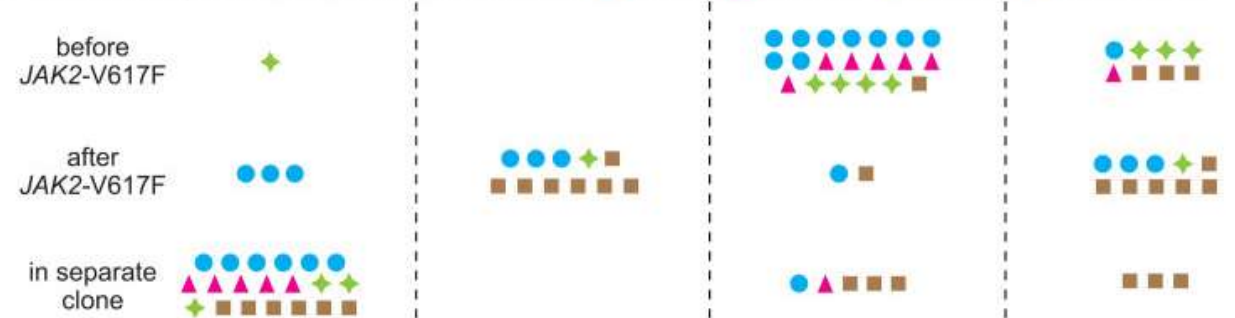
N = 50 *JAK2*V617F + ≥ mutación adicional  
(15 TE, 23 PV, 12 MF)

*Single-cell DNA sequencing vs single cell cultures*

## B Co-occurrence of additional somatic mutations within the clusters



## C Order of acquisition of additional mutations



## D Number and percentages of patients with a subclone homozygous for *JAK2*-V617F

3/15 (20%)      8/9 (89%)      14/19 (74%)      7/7 (100%)

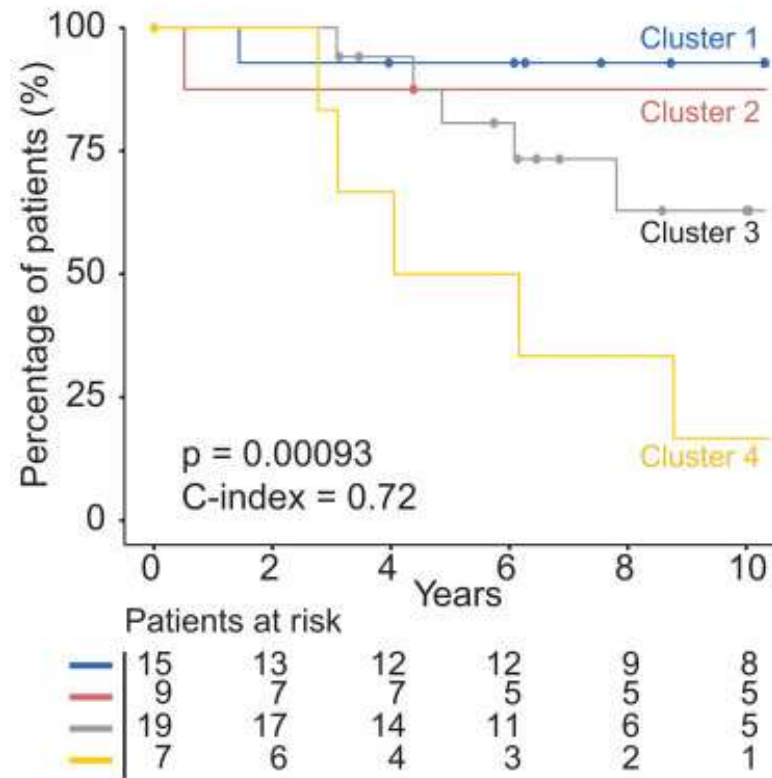
## E Number and percentages of MPN subtypes within each cluster

ET	7 (47%)	0	8 (42%)	0
PV	6 (40%)	8 (89%)	7 (37%)	2 (29%)
MF	2 (13%)	1 (11%)	4 (21%)	5 (71%)
Total	15 (100%)	9 (100%)	19 (100%)	7 (100%)



# Impacto del *cluster* en la supervivencia

Overall survival according to the cluster assignment

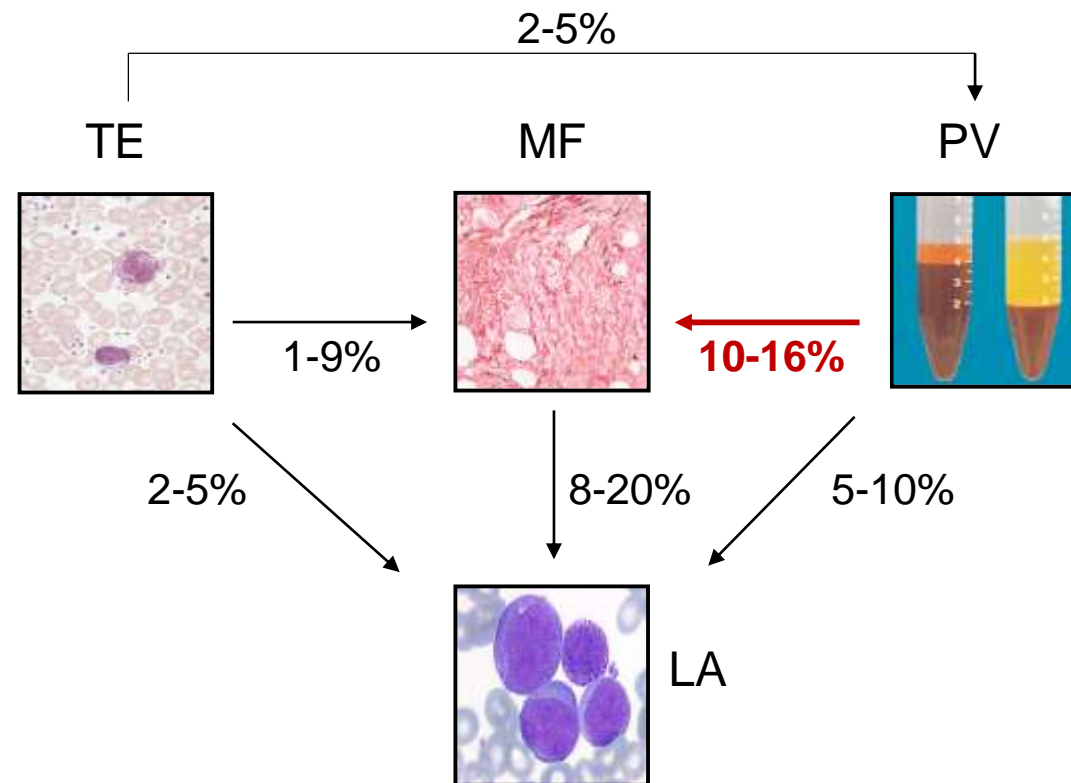


Multivariate Cox Model for Overall Survival

Variable	Hazard Ratio	95% CI	P Value
Age at diagnosis	1.06	1-1.12	0.049
Diagnosis (ET as reference)			
PV	0.37	0.08-1.83	0.22
Myelofibrosis	1.14	0.23-5.6	0.87
Clusters (clusters 1, 2, and 3 as reference)			
Cluster 4	5.8	1.4-24	0.015

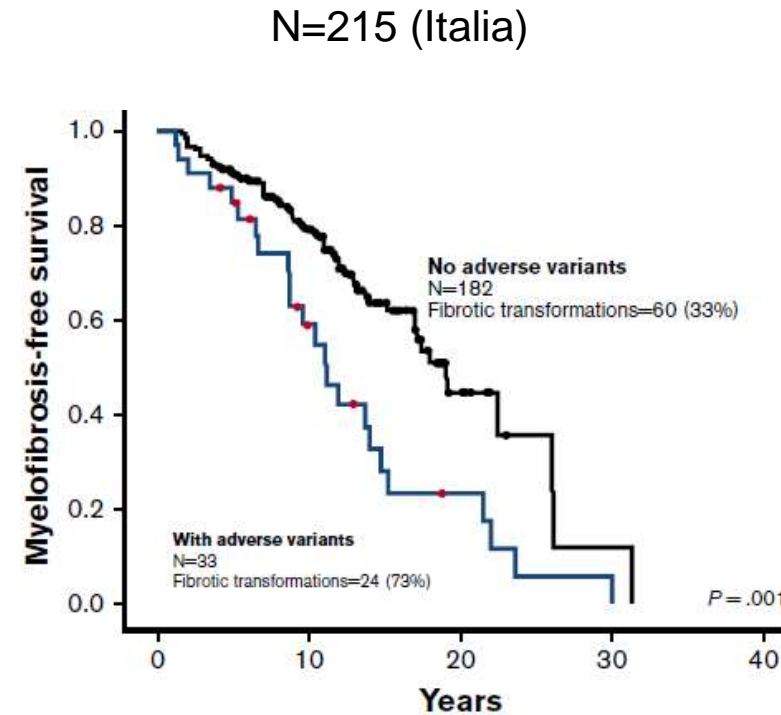
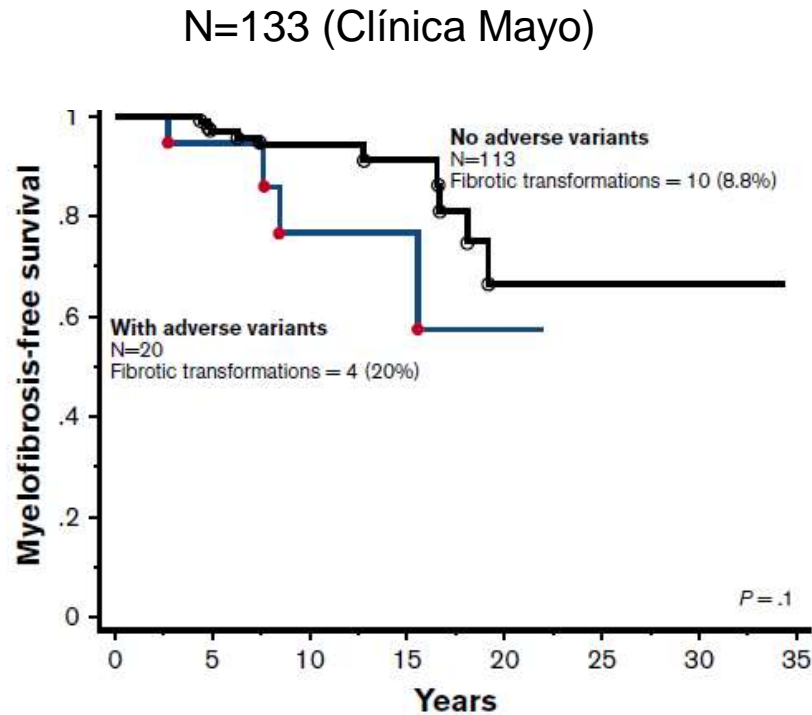
CI = confidence interval; ET = essential thrombocythemia; PV = polycythemia vera.

# Transformación a MF post PV



TE: trombocitemia esencial  
PV: policitemia vera  
MF: mielofibrosis  
LA: leucèmia aguda

# Impacto de las mutaciones de pronóstico adverso en la transformación a MFpPV

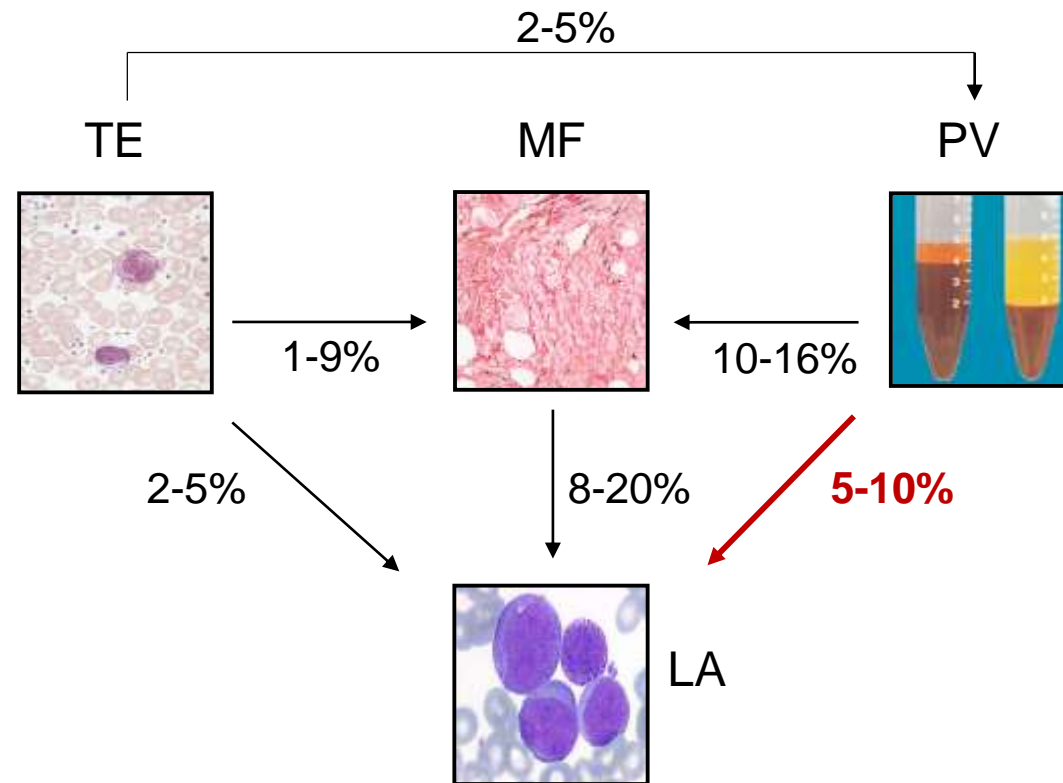


Mutaciones/variantes adversas: *ASXL1*, *SRFS2*, *IDH2*

## Frecuencia de mutaciones *non-driver* de acuerdo con la fase evolutiva

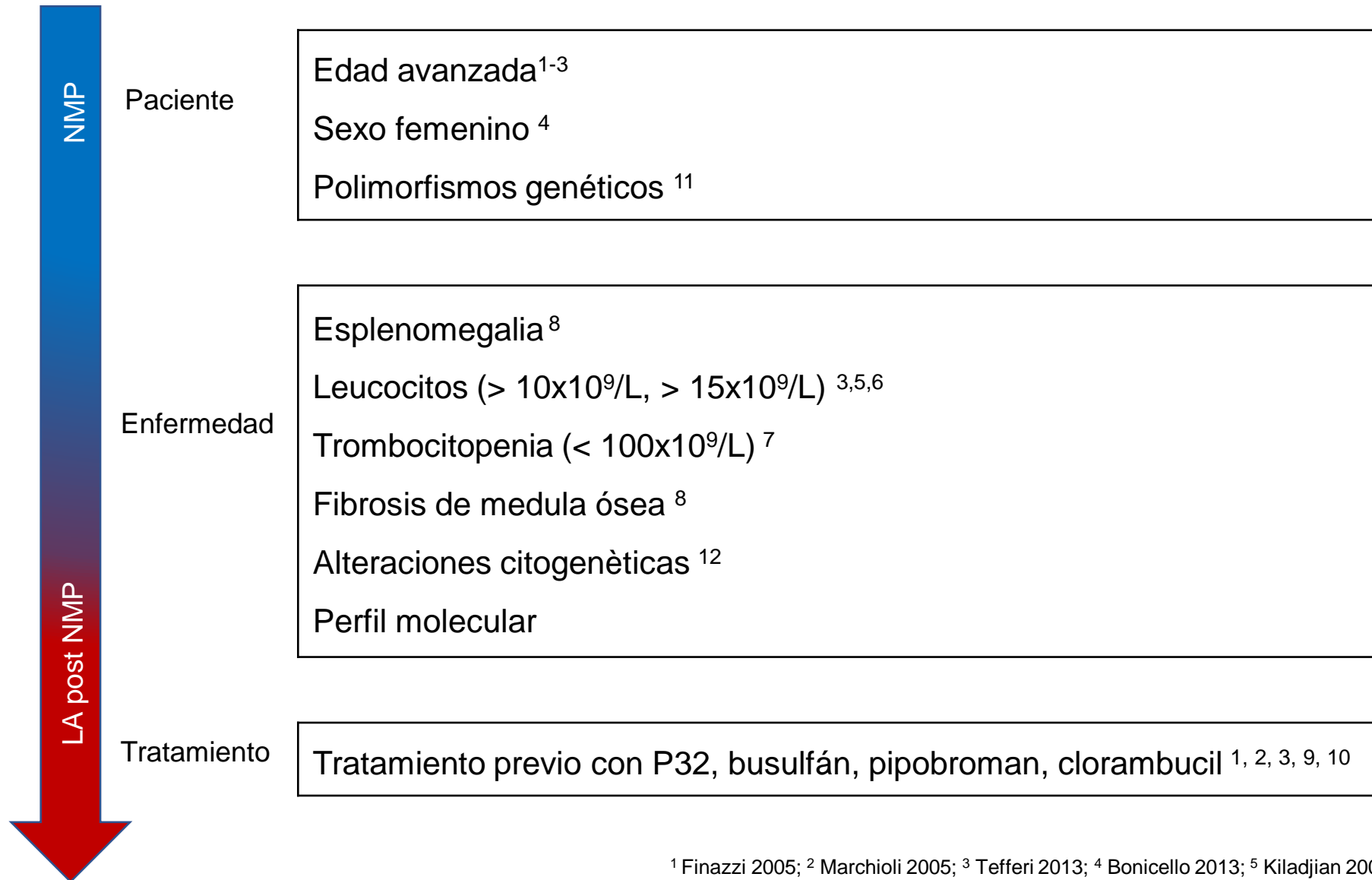
	Fase evolutiva en el último seguimiento			<i>p</i>		
	No progresión (A) N = 50	MF (B) N = 24	LAM (C) N = 12	<i>P</i> A vs C	<i>P</i> B vs C	<i>P</i> A vs B
Casos mutados en la primera muestra fase crónica, n (%)	9 (18)	11 (46)	10 (83)	p < 0,0001	p = 0,03	p = 0,07
Casos mutados última muestra, n (%)	14 (28)	16 (67)	12 (100)	p < 0,0001	p = 0,03	p = 0,008
Incidencia, mutaciones x 100 persona-año	1,7	4,4	25,6	p < 0,0001	p = 0,06	p = 0,06

# Transformación a LA post PV



TE: trombocitemia esencial  
PV: policitemia vera  
MF: mielofibrosis  
LA: leucèmia aguda

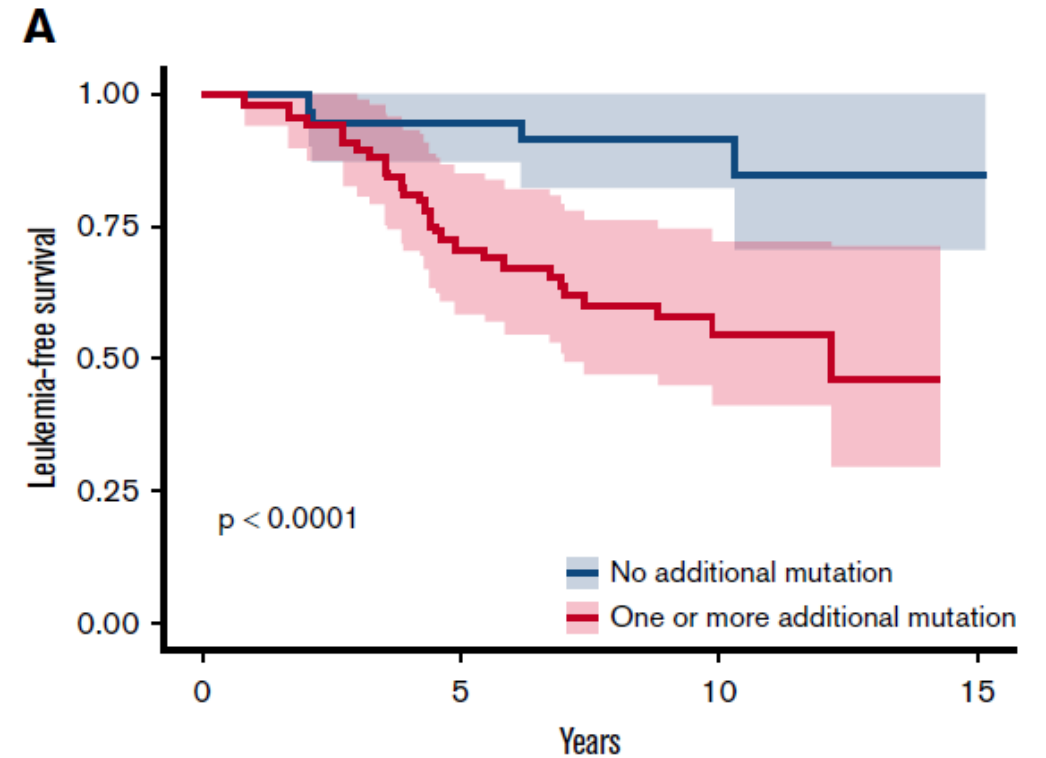
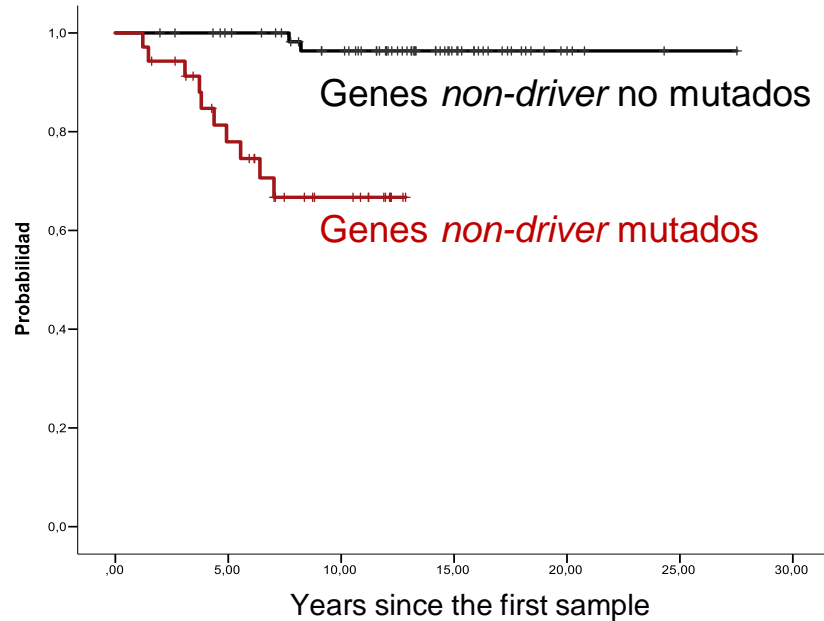
# Factores de riesgo de LA post PV



<sup>1</sup> Finazzi 2005; <sup>2</sup> Marchioli 2005; <sup>3</sup> Tefferi 2013; <sup>4</sup> Bonicello 2013; <sup>5</sup> Kiladjian 2003; <sup>6</sup> Gangat 2007; <sup>7</sup> Bai 2015;

<sup>8</sup> Abdulkarim 2010; <sup>9</sup> Alvarez-Larran 2017; <sup>10</sup> Passamonti 2004; <sup>11</sup> Hernandez-Boluda 2012; <sup>12</sup> Tefferi 2013

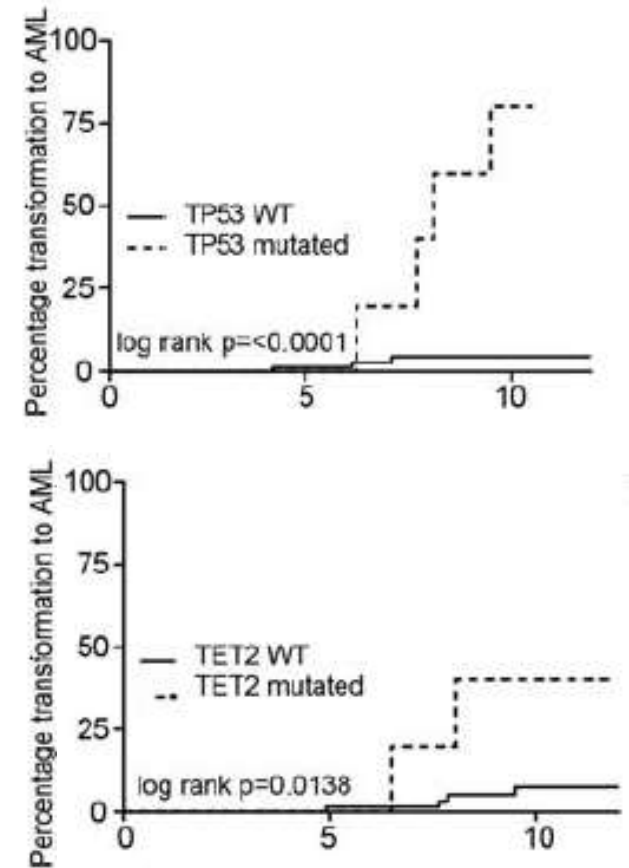
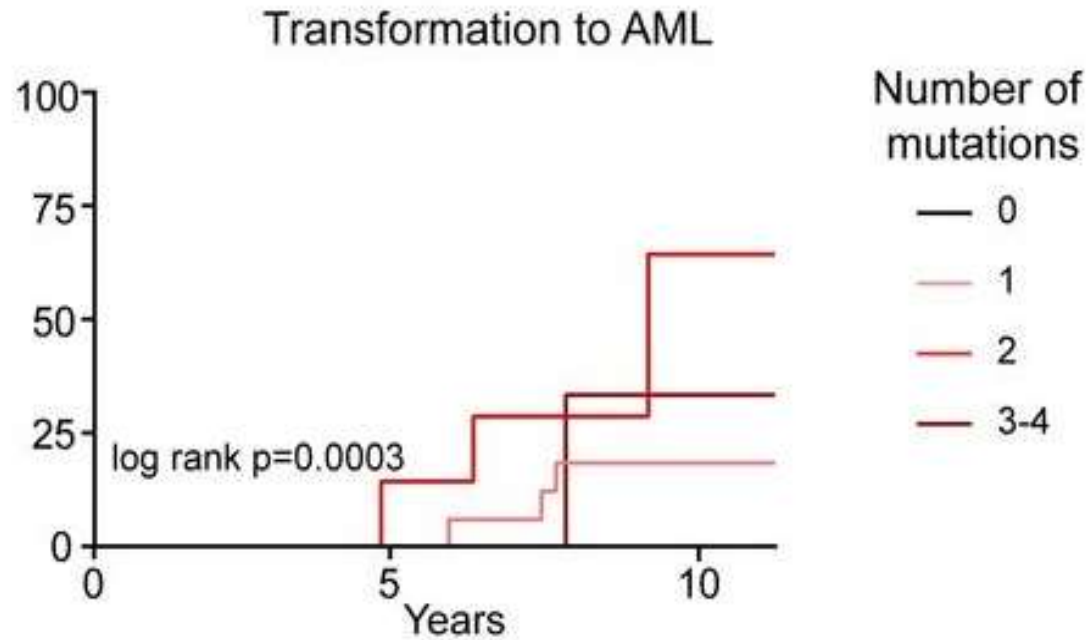
# Impacto de las mutaciones *non-driver* en la transformación a LA post PV/TE



- La presencia de mutaciones adicionales en la primera muestra se asocia a riesgo aumentado de LA post PV/TE (HR 12.2, 95%, CI 2.6-57.1,  $p = 0.001$ )
- *ASXL1*, *TP53*, *SRSF2*, *IDH1/2*, *RUNX1*

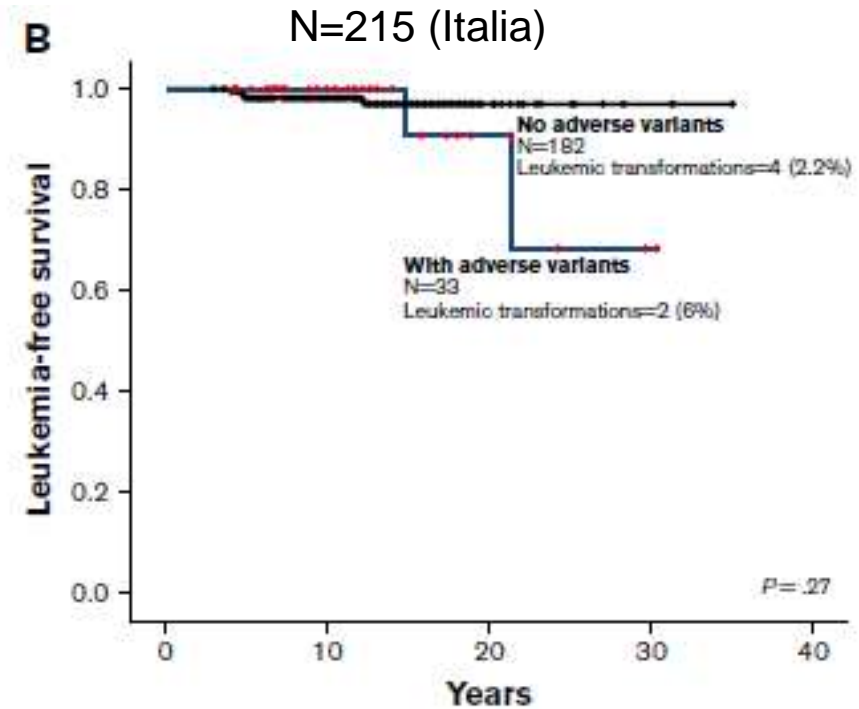
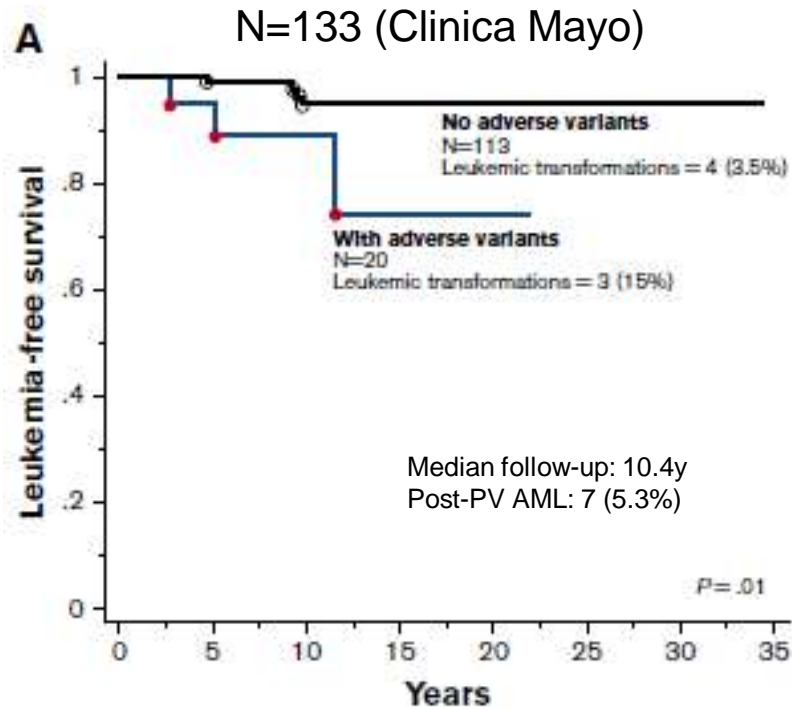
# Impacto de las mutaciones adicionales en la evolución a LApPV

N = 197 (PV, ET, PMF)



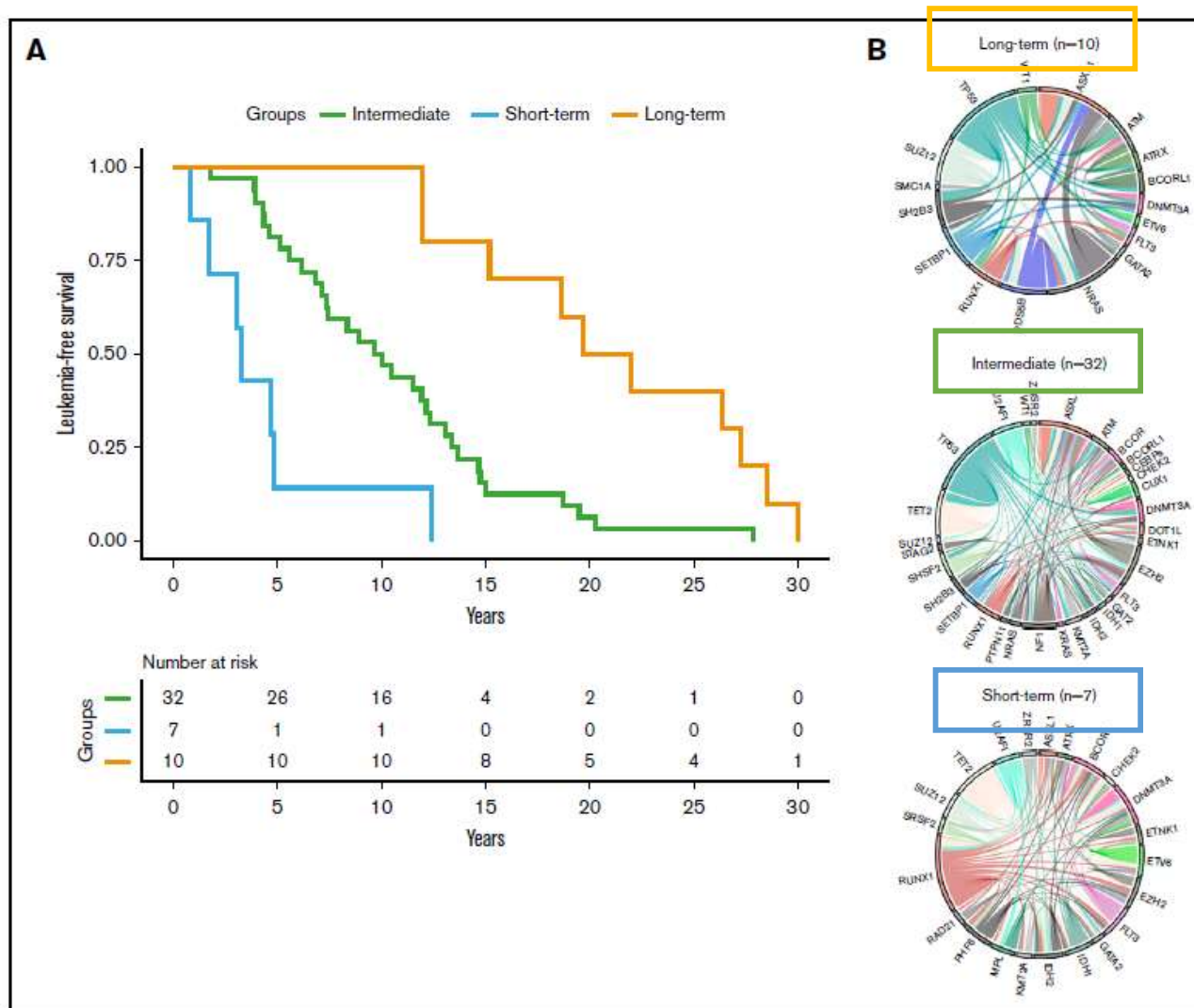


# Impacto de las mutaciones de pronóstico adverso en la transformación a LA post PV



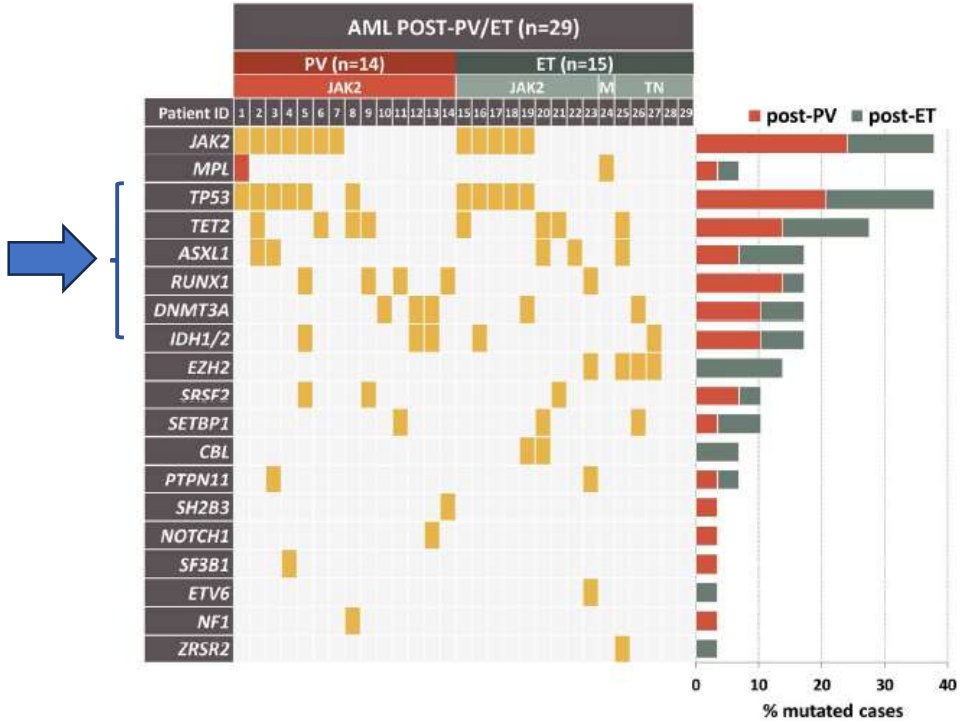
Mutaciones/variantes adversas: *ASXL1*, *SRFS2*, *IDH2*

# LA post PV/TE: relación entre perfil molecular y tiempo a la transformación



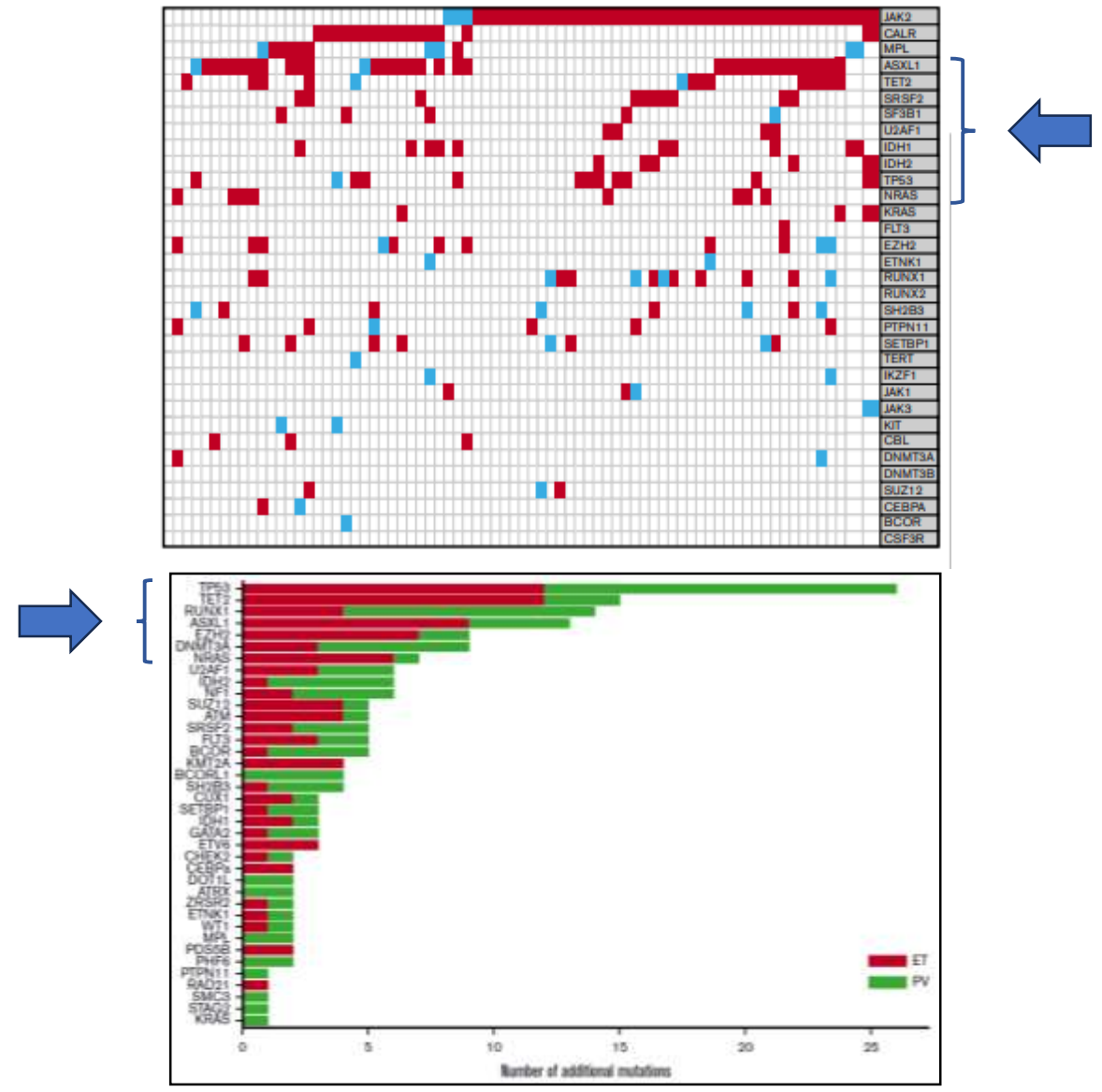
- Menor complejidad molecular
- TP53, ATM, NRAS, BCORL1
- Mayor complejidad molecular
- Todos  $\geq 1$  mutación splicing/remodelación cromatina (categ Grinfeld)
- Mutaciones presentes en el diagnóstico + segundo evento

# Mutaciones somáticas en el momento de la transformación



Mutaciones en genes *non-driver* en 25/29 pacientes (86%)  
 Mediana de 3 mutaciones/paciente

Alvarez-Larran *et al.* BJH 2017  
 Lasho *et al.* Blood Adv 2018  
 Luque Paz *et al.* Blood Adv 2020

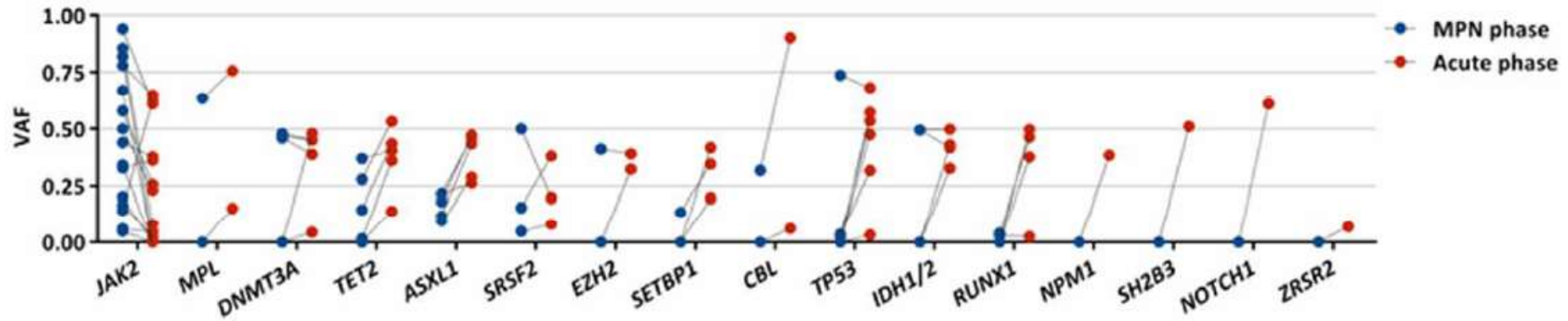


## Frecuencia de mutaciones *non-driver* de acuerdo con la fase evolutiva

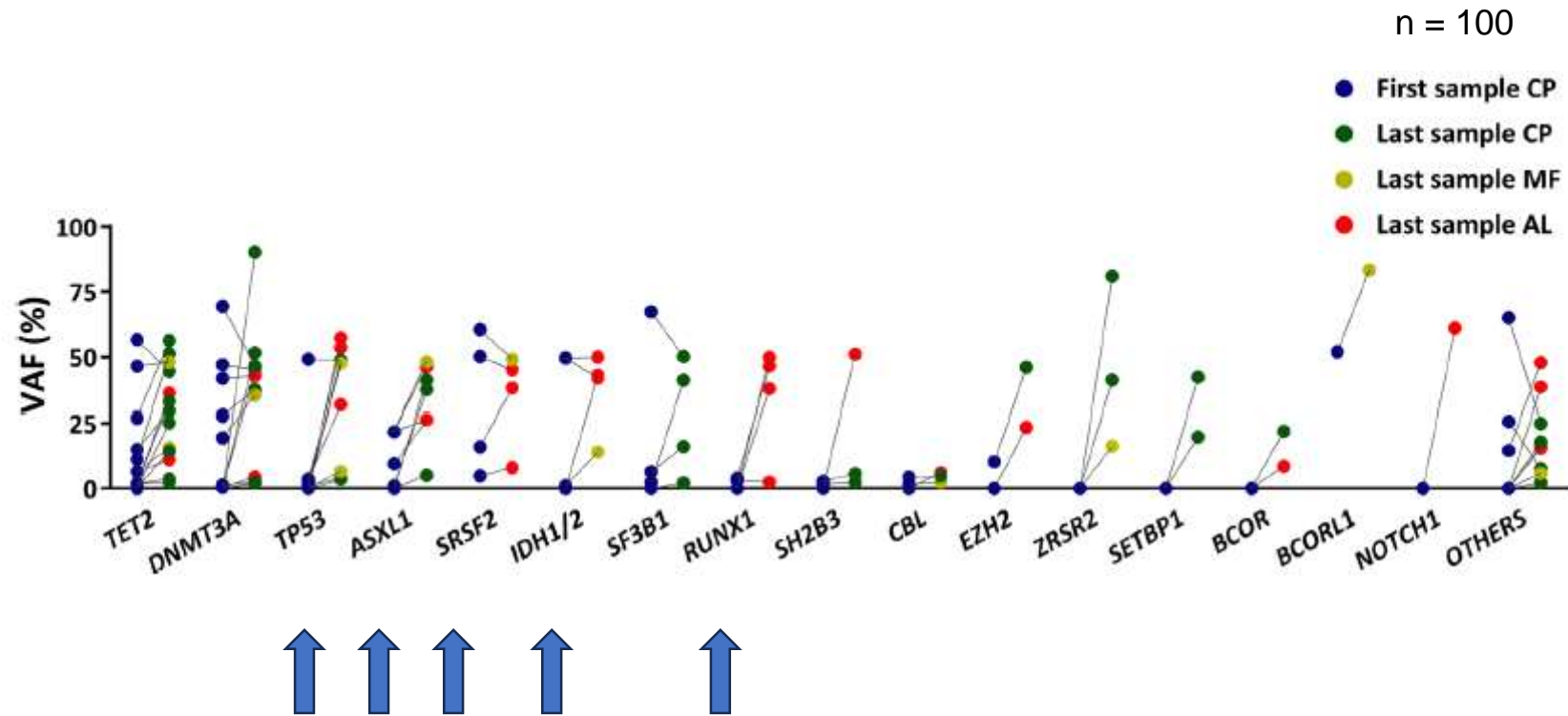
	Fase evolutiva en el último seguimiento			<i>p</i>		
	No progresión (A) N = 50	MF (B) N = 24	LAM (C) N = 12	<i>P</i> A vs C	<i>P</i> B vs C	<i>P</i> A vs B
Casos mutados en la primera muestra fase crónica, n (%)	9 (18)	11 (46)	10 (83)	p < 0,0001	p = 0,03	p = 0,07
Casos mutados última muestra, n (%)	14 (28)	16 (67)	12 (100)	p < 0,0001	p = 0,03	p = 0,008
Incidencia, mutaciones x 100 persona-año	1,7	4,4	25,6	p < 0,0001	p = 0,06	p = 0,06

# VAF: fase crónica vs LA post NMP

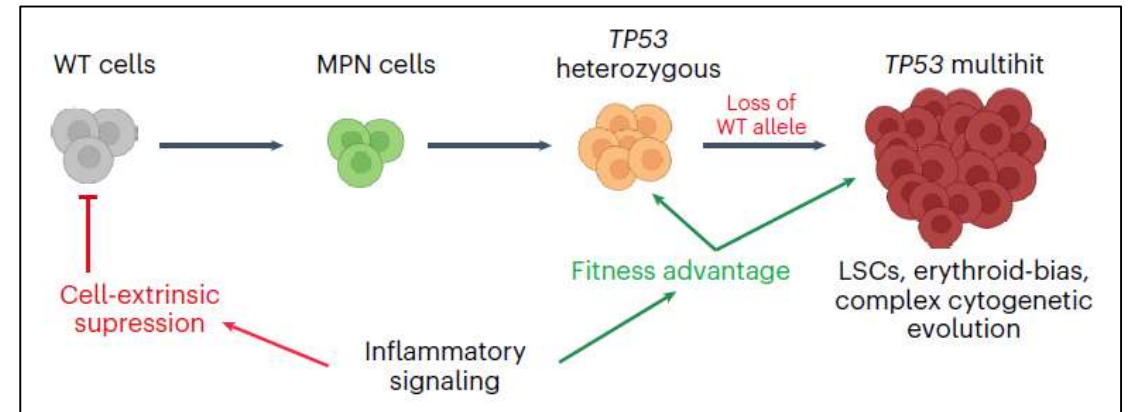
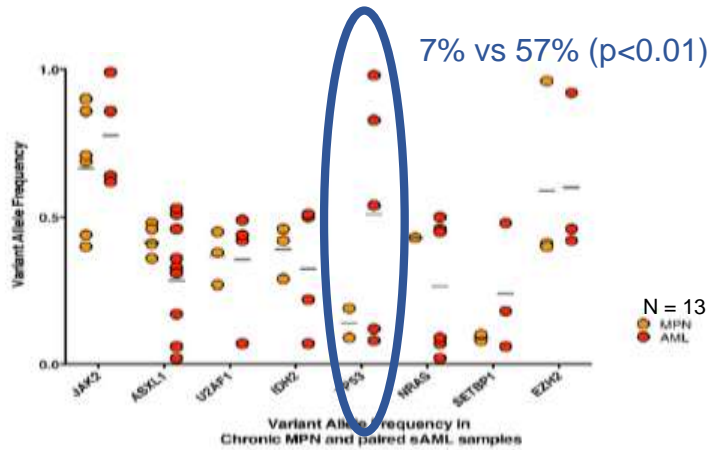
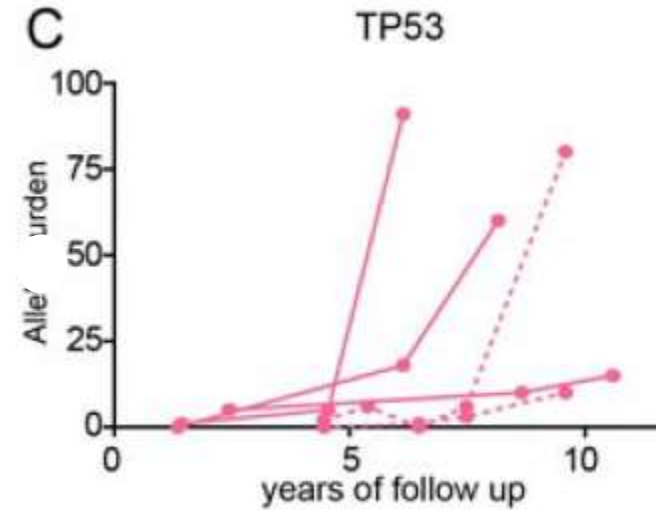
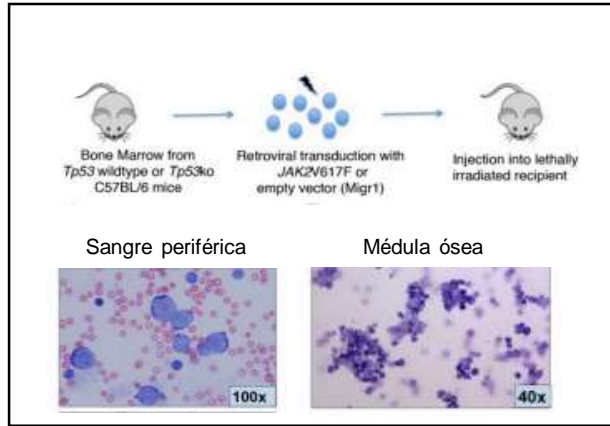
N = 20 (muestras apareadas)



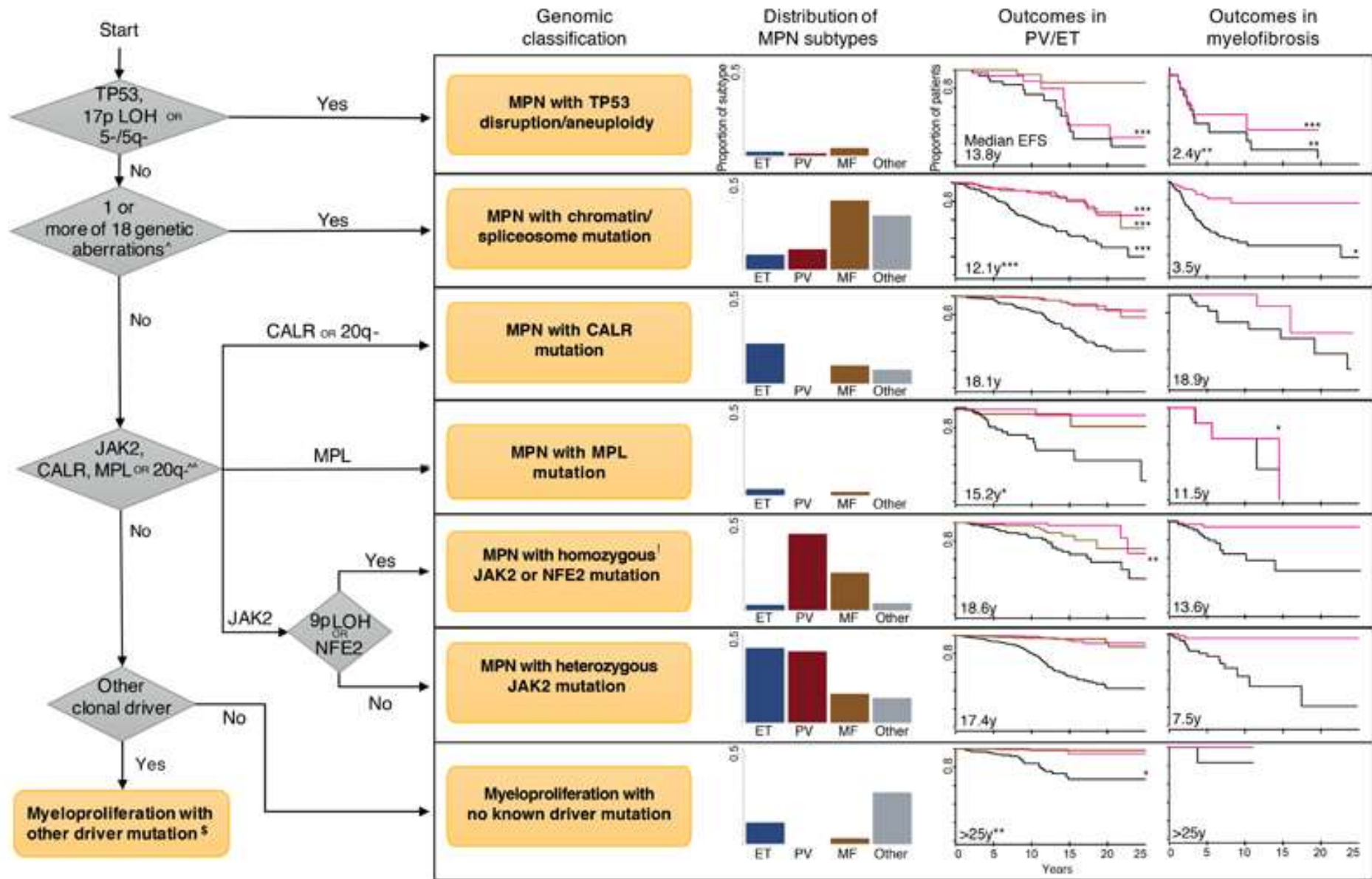
# Relación entre la VAF de mutaciones *non-driver* y la evolución clínica



# Expansión del clon *TP53* mutada en la LApPV



Rampal *et al.* PNAS 2014  
 Lundsberg *et al.* Blood 2014  
 Rodriguez-Meira *et al.* Nat Genetics 2023



<sup>^</sup> EZH2, IDH1/2, ASXL1, PHF6, CUX1, ZRSR2, SRSF2, U2AF1, KRAS, NRAS, GNAS, CBL, 7/7q LOH, 4q LOH, RUNX1, STAG2, BCOR.

AML transformation (pink line), MF transformation (orange line), Overall survival (black line).  
 \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 for outcome difference compared with MPN with heterozygous JAK2 mutation



# CONCLUSIONES

- La carga mutacional de *JAK2V617F* se asocia al fenotipo de la enfermedad y a un aumento del riesgo de MF post-PV
- En la MF post-PV existe un predominio de progenitores hematopoyéticos *JAK2V617F* mutados probablemente como consecuencia de la expansión de los clones homocigotos
- El número de mutaciones, el tipo y el orden de su adquisición influyen en el fenotipo de la enfermedad y en su patrón evolutivo
- La presencia de mutaciones en genes no *driver* en el momento del diagnóstico de la fase crónica podría favorecer la transformación leucémica en los pacientes con PV
- Las mutaciones de *TP53*, *RUNX1*, *ASXL1*, *SRSF2*, *EZH2*, *IDH 1/2* se consideran de alto riesgo



Muchas gracias!