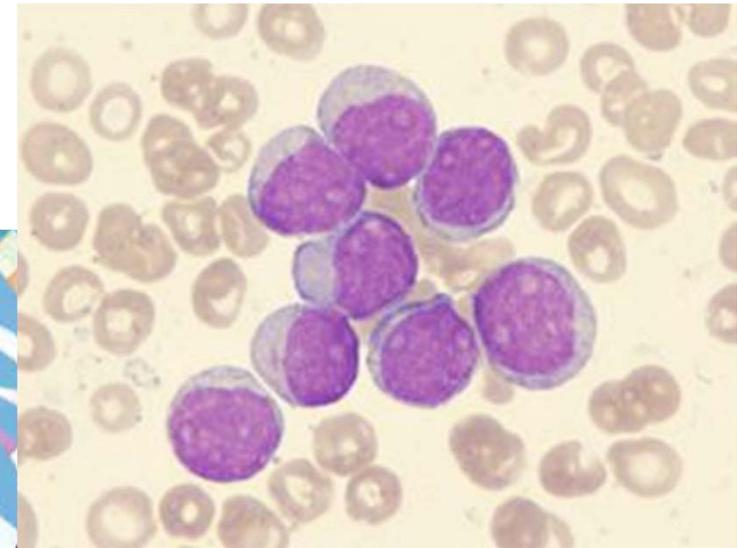


Panel multi-gen para  
análisis de genes relacionados con  
Leucemia Mieloide Aguda (LMA)  
mediante *Next Generation Sequencing*



## Alteraciones Citogenéticas en LMA

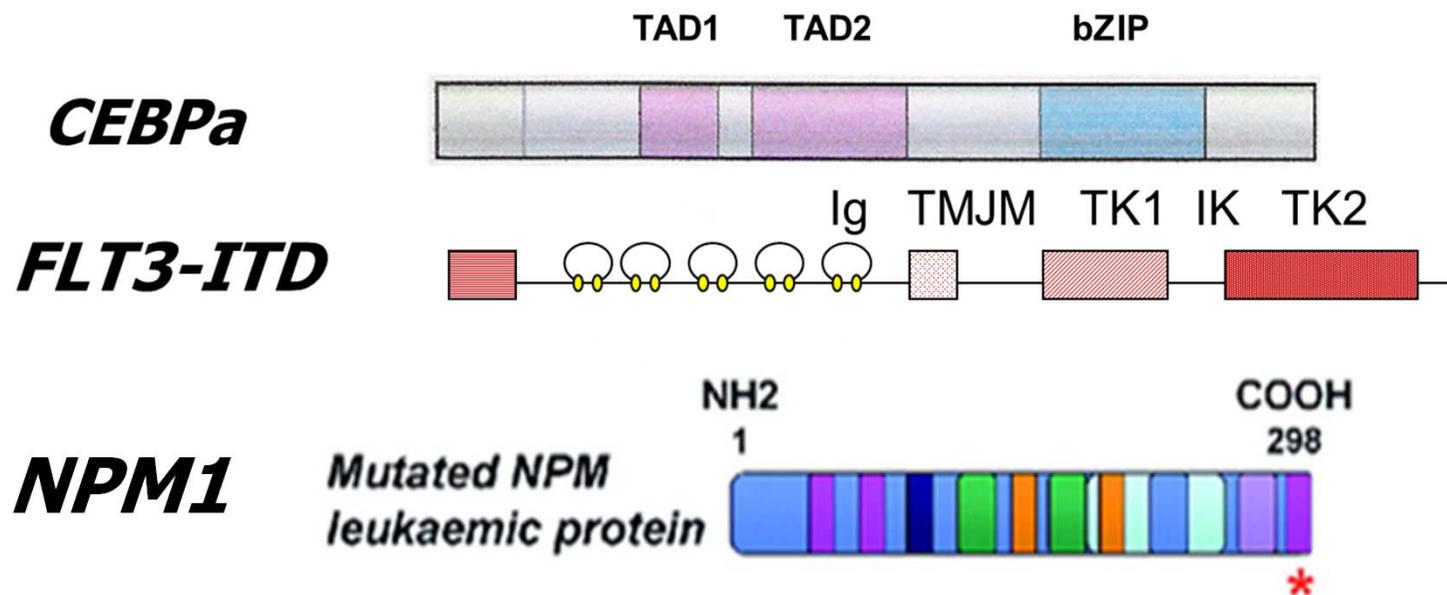
La leucemia mieloide aguda (LMA) es una enfermedad clonal heterogénea resultante de la transformación maligna de células madre hematopoyéticas.

**Clasificación Citogenética según el MRC 2010 (Grimwade *et al.*, 2010).**

| Grupos de riesgo    | Alteraciones citogenéticas   |
|---------------------|--|
| <i>Favorable</i>    | t(8;21); inv(16) <i>core binding factor</i> (CBF)  |
| <i>Intermedio</i>   | Entidades no clasificadas como favorable o adverso   |
| <i>Desfavorable</i> | Add (5q), -5, del(5q), -7, add (7q)/del(7q), abn(3q), inv (3)/t(3;3), 20q, 21q, -17, abn(17p), t(6;9), t(9;22), t(6;11), t(11q23), cariotipos complejos con $\geq 4$ anomalías no relacionadas |

## Alteraciones Moleculares en LMA

Entre los pacientes que presentan un cariotipo normal, o con riesgo citogenético intermedio, se han identificado diferentes alteraciones moleculares con valor pronóstico. Los genes *CEBPA*, *NPM1*, y *FLT3-ITD* presentan mutaciones cuyo diagnóstico proporciona información útil.



*The* **NEW ENGLAND**  
**JOURNAL** *of* **MEDICINE**

ESTABLISHED IN 1812

MARCH 22, 2012

VOL. 366 NO. 12

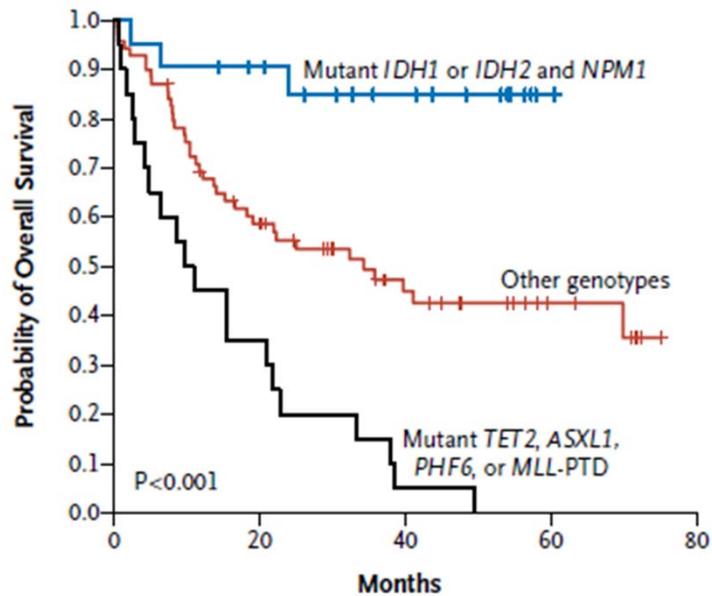
Prognostic Relevance of Integrated Genetic Profiling  
in Acute Myeloid Leukemia

Análisis mutacional de 18 genes en 398  
patients <60 años con LMA.

Resultados validados en un grupo  
independiente de 108 pacientes.

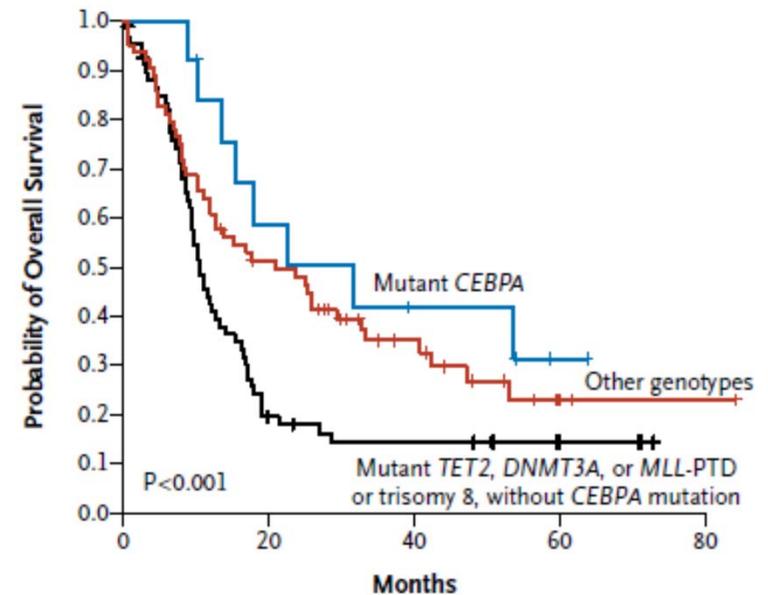
| Gene            | Overall Frequency (%) |
|-----------------|-----------------------|
| FLT3 (ITD, TKD) | 37 (30, 7)            |
| NPM1            | 29                    |
| DNMT3A          | 23                    |
| NRAS            | 10                    |
| CEBPA           | 9                     |
| TET2            | 8                     |
| WT1             | 8                     |
| IDH2            | 8                     |
| IDH1            | 7                     |
| KIT             | 6                     |
| RUNX1           | 5                     |
| MLL-PTD         | 5                     |
| ASXL1           | 3                     |
| PHF6            | 3                     |
| KRAS            | 2                     |
| PTEN            | 2                     |
| TP53            | 2                     |
| HRAS            | 0                     |
| EZH2            | 0                     |

**A Negative for *FLT3*-ITD Mutations**



| No. at Risk   |    |    |    |   | Prognosis    |
|---|----|----|----|---|--------------|
| Mutant <i>IDH1</i> or <i>IDH2</i> and <i>NPM1</i>                   | 21 | 18 | 11 | 2 | Good         |
| Other genotypes   | 74 | 44 | 22 | 8 | Intermediate |
| Mutant <i>TET2</i> , <i>ASXL1</i> , <i>PHF6</i> , or <i>MLL-PTD</i> | 16 | 3  | 1  |   | Poor         |

**B Positive for *FLT3*-ITD Mutations**



| No. at Risk  |    |    |    |   | Prognosis    |
|--|----|----|----|---|--------------|
| Mutant <i>CEBPA</i>  | 13 | 7  | 4  | 1 | Intermediate |
| Other genotypes  | 64 | 31 | 14 | 3 | Intermediate |
| Mutant <i>TET2</i> , <i>DNMT3A</i> , or <i>MLL-PTD</i> or trisomy 8, without <i>CEBPA</i> mutation | 67 | 12 | 8  | 3 | Poor         |

Multivariate Risk Classification of Patients with Intermediate-Risk AML.

**A Revised Risk Stratification**

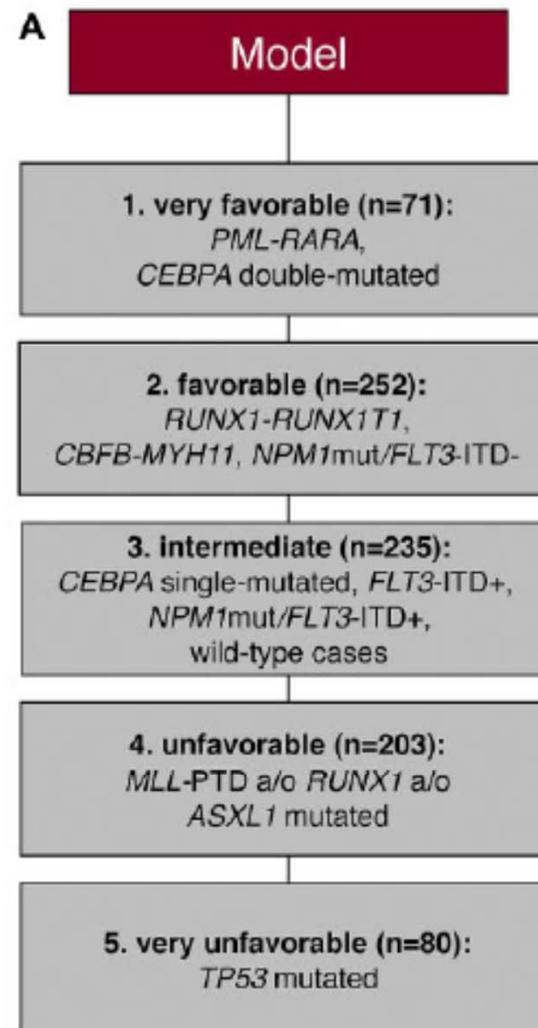
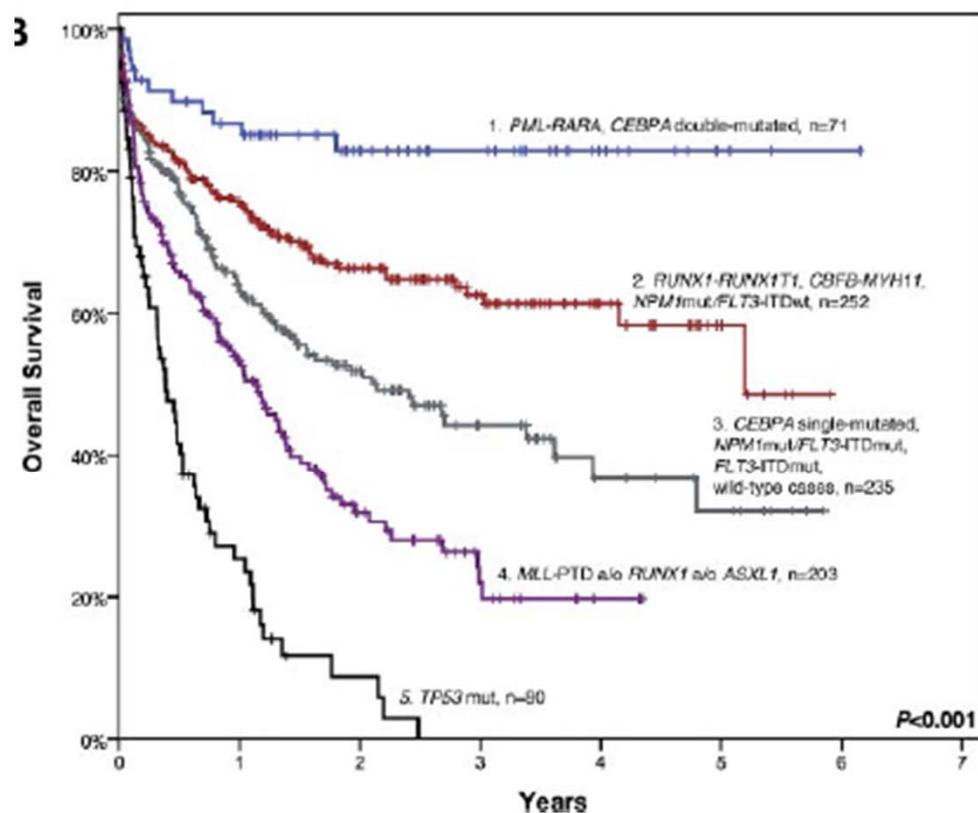
| Cytogenetic Classification  | Mutations                             |   | Overall Risk Profile |
|---|---------------------------------------|---|----------------------|
| Favorable   | Any                                   |   | Favorable            |
| Normal karyo-<br>type or inter-<br>mediate-risk<br>cytogenetic<br>lesions | <i>FLT3</i> -ITD-negative             | Mutant <i>NPM1</i> and <i>IDH1</i> or <i>IDH2</i>   | Favorable            |
|   | <i>FLT3</i> -ITD-negative             | Wild-type <i>ASXL1</i> , <i>MLL</i> -PTD, <i>PHF6</i> , and <i>TET2</i>                         |                      |
|   | <i>FLT3</i> -ITD-negative or positive | Mutant <i>CEBPA</i>   | Intermediate         |
|   | <i>FLT3</i> -ITD-positive             | Wild-type <i>MLL</i> -PTD, <i>TET2</i> , and <i>DNMT3A</i> and trisomy 8–negative               |                      |
|   | <i>FLT3</i> -ITD-negative             | Mutant <i>TET2</i> , <i>MLL</i> -PTD, <i>ASXL1</i> , or <i>PHF6</i>                             | Unfavorable          |
|   | <i>FLT3</i> -ITD-positive             | Mutant <i>TET2</i> , <i>MLL</i> -PTD, <i>DNMT3A</i> , or trisomy 8, without mutant <i>CEBPA</i> |                      |
| Unfavorable   | Any                                   |   |                      |

Revised Risk Stratification of Patients with AML on the Basis of Integrated Genetic Analysis.

# blood

2012 120: 2963-2972  
 Prepublished online August 20, 2012;  
 doi:10.1182/blood-2012-03-419622

## A novel hierarchical prognostic model of AML solely based on molecular mutations



## Acute Myeloid Leukemia NextGeneDx®

Análisis Molecular de Leucemias Mieloides Agudas mediante *Next Generation Sequencing*

Las alteraciones moleculares presentes en pacientes con LMA permiten un análisis genético integrado proporcionando mayor información pronóstica y terapéutica.

Imegen ha desarrollado un panel multi-gen para el análisis, mediante Next Generation Sequencing, de 12 genes implicados en el desarrollo y la evolución de esta enfermedad..

| Genes         | Exones   | Mutación    | Total PCR  |
|---------------|----------|-------------|------------|
| <i>FLT3</i>   | Completo | ITD         | 24         |
| <i>CEBPA</i>  | Completo |             | 4          |
| <i>NPM1</i>   | 12       | Inserciones | 1          |
| <i>IDH1</i>   | 4        |             | 1          |
| <i>IDH2</i>   | 4 y 5    |             | 1          |
| <i>ASXL1</i>  | 12       |             | 1          |
| <i>DNMT3A</i> | Completo |             | 23         |
| <i>PHF6</i>   | Completo |             | 8          |
| <i>RUNX1</i>  | Completo |             | 13         |
| <i>TET2</i>   | Completo |             | 22         |
| <i>TP53</i>   | Completo |             | 8          |
| <i>CKIT</i>   | Completo |             | 19         |
| <b>Total</b>  |          |             | <b>132</b> |

Fundada en 2009

Más de 15 años de experiencia empresarial

Instalaciones en el Parque Científico de la Universidad de Valencia

Laboratorio de Referencia en Servicios y Productos para Análisis Genético

Presentes en todo el territorio nacional

Ventas en más de 10 países



## MISIÓN & VISION

Desarrollo y comercialización de estudios genéticos con valor diagnóstico, pronóstico y preventivo

Experiencia, inversión en I+D, y consolidación de alianzas y colaboraciones con instituciones públicas y privadas





- ✓ Laboratorio de referencia en Diagnóstico Genético
- ✓ Desarrollo continuo de Servicios diagnósticos de utilidad clínica
- ✓ Catálogo amplio y dinámico con más de **1000 enfermedades genéticas**
- ✓ **Puesta a punto** de métodos de análisis para cualquier enfermedad genética descrita
- ✓ Diagnóstico Prenatal
- ✓ *Next Generation Sequencing* con calidad diagnóstica
- ✓ Paneles Multigen
- ✓ Kits de análisis

# NextGeneDx®

- Diseño específico **dirigido a problemas clínicos concretos**
  - Número reducido de ROIs
  - Número limitado de resultados ocasionales o incidentales
  - Ausencia de resultados no solicitados
- **Representatividad 100%** de todas las regiones genómicas de interés, - -  
Exones y regiones intrónicas adyacentes (+/- 30 nt)
- **Sensibilidad y especificidad comparable a Sanger**  
Cobertura suficiente (mínimo 100X)



## Interpretación

- MiSeq Reporter
- Pipeline propio
  - ✓ Calidad del proceso global  
calidad de secuencia, alineamiento, asignación e identificación de variantes
  - ✓ Calidad de los parámetros mínimos establecidos. Alerta sobre:
    - Regiones no representadas de las ROIs definidas
    - Regiones con coberturas inferiores a 100X
    - Variantes con calidad de mapeo o secuenciación baja
  - ✓ Búsqueda de variantes en bases de datos
    - de polimorfismos (dbSNP,...)
    - de genes y enfermedades (LOVD, BIC, HGMD, ...)
    - base de datos propia

## Acute Myeloid Leukemia NextGeneDx®

Análisis Molecular de Leucemias Mieloides Agudas mediante *Next Generation Sequencing*

- Igual fiabilidad que Sanger, aplicación diagnóstica
- Sensibilidad y especificidad prácticamente del 100%
- Diseño específico: Utilidad Clínica
- Robustez y reproducibilidad
- Reducción significativa de costes

| Genes         | Exones   | Mutación    |
|---------------|----------|-------------|
| <i>FLT3</i>   | Completo | ITD         |
| <i>CEBPA</i>  | Completo |             |
| <i>NPM1</i>   | 12       | Inserciones |
| <i>IDH1</i>   | 4        |             |
| <i>IDH2</i>   | 4 y 5    |             |
| <i>ASXL1</i>  | 12       |             |
| <i>DNMT3A</i> | Completo |             |
| <i>PHF6</i>   | Completo |             |
| <i>RUNX1</i>  | Completo |             |
| <i>TET2</i>   | Completo |             |
| <i>TP53</i>   | Completo |             |
| <i>CKIT</i>   | Completo |             |
| <b>Total</b>  |          |             |

instituto de medicina genómica  
**imegen**

[www.imegen.es](http://www.imegen.es)

Parque Científico de la Universidad de Valencia  
c/ Agustín Escardino, 9  
46980 Paterna (Valencia)

[info@imegen.es](mailto:info@imegen.es)

Tel: +34 963 212 340  
Fax: +34 963 212 341



¡GRACIAS!

**Instituto de Medicina Genómica**

