

## VARIACIÓN EN EL GEN ALAD EN LA ANEMIA REFRACTARIA CON SIDEROBLASTOS EN ANILLO DETECTADA POR SECUENCIACIÓN MASIVA

M. del Rey<sup>1</sup>, R. Benito<sup>1</sup>, M.<sup>a</sup> Hernández<sup>1</sup>, M.<sup>a</sup> Abaigar<sup>1</sup>, D. Borrego<sup>2</sup>, R. Cuello<sup>2</sup>, A. Simón<sup>3</sup>, C. Aguilar<sup>4</sup>, J.M. Hernández<sup>3</sup>

<sup>1</sup> IBMCC, Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca-CSIC. <sup>2</sup> Hospital Clínico de Valladolid. <sup>3</sup> Hospital Universitario de Salamanca. <sup>4</sup> Hospital General de Segovia

La presencia de mutaciones es un acontecimiento frecuente en los SMD de alto riesgo. Sin embargo, las alteraciones descritas en los SMD de bajo riesgo, y en concreto en la Anemia Refractaria con Sideroblastos en Anillo (ARSA) son menos comunes. La captura de regiones génicas y su posterior secuenciación masiva es una estrategia que permite realizar un análisis de las variaciones en los genes seleccionados, por lo que puede ser de utilidad en el estudio de los SMD

**Objetivo:** Analizar la presencia de variaciones genéticas en los SMD mediante el uso del enriquecimiento de secuencias y secuenciación masiva.

**Pacientes y métodos:** Se analizaron 4 casos: 2 tenían una ARSA y otros 2 tenían una AREB. Se extrajo el ADN procedente de las células mononucleadas de la MO. Se secuenció un total de 1.564 exones, correspondientes a 93 genes, y dos regiones cromosómicas completas: 13q14.3 y 17p13.1. A partir de 5 µg de ADN se preparó una librería de fragmentos de cadena sencilla (300-500 pb). Las secuencias de interés fueron capturadas mediante un array de diseño personalizado (NimbleGen Sequence Capture) y luego amplificadas por PCR. El producto final se secuenció mediante el sistema 454-FLX Roche. La localización de las alteraciones se realizó con el programa GS Reference Mapper (454 Roche) y los resultados se confirmaron por secuenciación Sanger

**Resultados:** En el análisis global de los 4 casos se identificaron 71 alteraciones que implicaban cambio de aminoácido en la secuencia proteica, los cuales pertenecían a 39 genes. 58 de ellos eran polimorfismos ya descritos, mientras que 13 eran cambios no descritos. 11 polimorfismos aparecían en los 4 casos, 1 polimorfismo en GCAT era característico de las dos AREB y 2 polimorfismos en SLC16A14 y SYNE1 se observaron en las dos ARSA. De las 13 posibles mutaciones nuevas, IQGAP aparecía mutado en un caso de alto riesgo y un caso de bajo riesgo, mientras que los genes CEBPA, E2F3, NRAS, PHLPP1, TET2 y TIMM50 presentaban mutaciones en el 50% de los AREB. SYNE1 aparecía alterado en los dos AREB. Una mutación en ALAD, implicado en la formación del grupo hemo, fue observada en un ARSA. La mutación fue confirmada por secuenciación convencional. Además, ALAD fue secuenciado en otros 25 casos con ARSA y un cambio no descrito fue encontrado en el mismo exón. Ambas mutaciones daban lugar a cambio de aminoácido en su secuencia proteica, por lo que podrían estar implicadas en la génesis o el desarrollo de los ARSA.

**Conclusión:** El enriquecimiento mediante captura de secuencias seguido de la tecnología NGS permitió la caracterización de nuevas alteraciones en los SMD. En las ARSA se ha observado una variación en el gen ALAD, que podría estar implicada en su patogénesis.

*Financiación FEHH*