



**UNIVERSIDADE DA CORUÑA**

FACULDADE DE CIENCIAS DA SAÚDE

**MESTRADO EN: ASISTENCIA E INVESTIGACIÓN SANITARIA**

**ESPECIALIDADE: INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

CURSO ACADÉMICO 2022-2023

TRABALLO FIN DE MESTRADO

**MUTACION EN SF3B1. PRONÓSTICO DE LOS  
PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO DE  
BAJO GRADO.**

**Autora: Marta García Culebras**

**Tutor: Juan Manuel Vilar Fernández**

**AGRADECIMIENTOS**

*A mis padres, por su apoyo siempre.*

*Al doctor José Francisco Falantes González, por su conocimiento y ayuda.*

## RESUMEN

*Introducción:* La mutación en el SF3B1 define a un subgrupo de pacientes con síndrome mielodisplásico (SMD-SF3B1<sup>mut</sup>) asociados generalmente con pronóstico no desfavorable. Sin embargo, los pacientes con SMD-SF3B1<sup>mut</sup> constituyen un grupo ampliamente heterogéneo en función de la presencia de alteraciones genéticas adicionales y según el *hotspot* afectado (K700E vs. otros).

*Objetivos:* Evaluar el impacto pronóstico en términos de supervivencia global (SG) y riesgo de progresión leucémica según el tipo de mutación en SF3B1 a partir de la estratificación pronóstica de los pacientes con SMD-SF3B1<sup>mut</sup> por el IPSS-M.

*Material y Métodos:* Estudio retrospectivo, unicéntrico de 46 pacientes con SMD-SF3B1<sup>mut</sup>. Se realizará un análisis descriptivo e inferencial. La función de supervivencia de los pacientes con SMD-SF3B1<sup>mut</sup> se ha estimado utilizando el estimador de Kaplan-Meier (SPSS® versión 26.0.0).

*Conclusión:* El grupo de pacientes con mutación en SF3B1 es heterogéneo desde el punto de vista clínico. Este estudio pretende destacar la importancia de conocer el subtipo de mutación en SF3B1 para la evaluación del riesgo de SMD.

## RESUMO

*Introdución:* A mutación SF3B1 define un subgrupo de pacientes con síndrome mielodisplásico (MDS-SF3B1<sup>mut</sup>) xeralmente asociado cun prognóstico non desfavorable. Non obstante, os pacientes con MDS-SF3B1<sup>mut</sup> constitúen un grupo amplamente heteroxéneo dependendo da presenza de alteracións xenéticas adicionais e segundo o hotspot afectado (K700E vs. outros).

*Obxectivo:* Avaliar o impacto pronóstico en termos de supervivencia global (SO) e probabilidade de progresión leucémica dacordo con o tipo de mutación de SF3B1 en función da estratificación pronóstica dos pacientes con MDS-SF3B1<sup>mut</sup> pola IPSS-M.

*Metodoloxía:* Estudo retrospectivo, monocéntrico, de 46 pacientes con SMD-SF3B1<sup>mut</sup>. Realizarase unha análise descritiva e inferencial. A análise de supervivencia realizouse mediante o método de Kaplan-Meier (SPSS® versión 26.0.0).

*Conclusión:* os pacientes con mutación SF3B1 son clinicamente heteroxéneos. Este estudo destaca a importancia do subtipo de mutación SF3B1 na avaliación do risco de MDS.

## ABSTRACT

*Introduction:* The SF3B1 mutation defines a subgroup of patients with myelodysplastic syndrome (MDS-SF3B1<sup>mut</sup>) generally associated with a not unfavorable prognosis. However, patients with MDS-SF3B1<sup>mut</sup> constitute a heterogeneous group depending on the presence of additional genetic alterations and according to the affected hotspot (K700E vs. others).

*Objectives:* To evaluate the prognostic impact in terms of overall survival (OS) and risk of leukemic progression according to the type of SF3B1 mutation from the prognostic stratification of patients with MDS-SF3B1<sup>mut</sup> by the IPSS-M.

*Material and Methods:* Retrospective, single-center study of 46 patients with SMD-SF3B1<sup>mut</sup>. A descriptive and inferential analysis will be carried out. The survival function of patients with SMD-SF3B1mut has been estimated using the estimator of Kaplan-Meier (SPSS version 26.0.0).

*Conclusion:* Patients with SF3B1 mutation is clinically heterogeneous. This study highlights the importance of the SF3B1 mutation subtype in MDS risk assessment.

## INDICE

<b>RESUMEN</b> .....	<b>3</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>4</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>5</b>
<b>ABREVIATURAS</b> .....	<b>8</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>9</b>
Diagnóstico .....	9
Clasificación .....	11
Pronóstico .....	14
Mutación en SF3B1 .....	15
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>19</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>21</b>
Ámbito de estudio .....	21
Periodo de estudio.....	21
Tipo de estudio .....	21
Estrategia de búsqueda bibliográfica .....	22
Criterios de inclusión .....	23
Criterios de exclusión.....	23
Selección de la muestra .....	23
Mediciones .....	23
Análisis estadístico.....	24
Aspectos éticos .....	25
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>27</b>
Análisis descriptivo .....	27
Variables relacionadas con el diagnóstico de SMD.....	27

*Mutación en SF3B1, impacto pronóstico en pacientes con SMD*

Clasificación pronóstica .....	32
Características moleculares y citogenéticas .....	33
<b>Resultados de inferencia estadística .....</b>	<b>35</b>
Distribución de la proteína K700E según los grupos pronóstico IPSS-R e IPSS-M.....	35
Relación entre la presencia de la proteína K700E y riesgo de progresión a leucemia mieloide aguda (LMA).....	38
<b>Análisis de supervivencia .....</b>	<b>39</b>
Análisis de supervivencia global de pacientes con SMD y mutación en SF3B1.....	40
Análisis de supervivencia de pacientes con SMD y mutación en SF3B1 versus SMD de bajo riesgo sin mutación en SF3B1 .....	40
Análisis de supervivencia según la presencia o ausencia de la proteína K700E en los pacientes con SMD y mutación en SF3B1 .....	41
<b><i>DISCUSIÓN</i>.....</b>	<b>43</b>
<b><i>CONCLUSIONES</i>.....</b>	<b>46</b>
<b><i>CRONOGRAMA Y PLAN DE TRABAJO</i> .....</b>	<b>47</b>
<b><i>PLAN DE DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS</i> .....</b>	<b>48</b>
<b><i>ANEXO: ILUSTRACIONES, FIGURAS Y TABLAS</i> .....</b>	<b>50</b>
<b>FIGURAS</b> .....	<b>50</b>
<b>TABLAS</b> .....	<b>50</b>
<b><i>BIBLIOGRAFÍA</i>.....</b>	<b>51</b>

## ABREVIATURAS

- CAR-T cells: Terapia de células T con receptores quiméricos de antígenos
- DNA: Ácido desoxirribonucleico
- HUVR: Hospital Universitario Virgen del Rocío
- ICC: International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias
- IPSS: International Prognostic Scoring System
- IPSS-M: International Prognostic Scoring System Revised-Molecular
- IPSS-R: International Prognostic Scoring System Revised
- IWG-PM: International Working Group for Prognosis in MDS
- LMA: Leucemia mieloide aguda
- NGS: Secuenciación de Nueva Generación
- NOS: No especificado
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- PMN: Neutrófilos polimofonucleares
- RGDP: Reglamento General de Protección de Datos
- SF3B1: Gen codificante para la subunidad 1 del factor de splicing 3b
- SG: Supervivencia global
- SMD: Síndromes mielodisplásicos



## INTRODUCCIÓN

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) incluyen un amplio grupo de neoplasias mieloides, caracterizadas por una hematopoyesis ineficaz, presencia de alteraciones morfológicas (displasia) en las distintas series sanguíneas, un grado variable de citopenias en sangre periférica y riesgo de progresión a leucemia aguda.

Los SMD se caracterizan por una gran heterogeneidad clínica. La variedad fenotípica de estas neoplasias se relaciona con múltiples factores, entre ellos: mutaciones en determinados genes, cambios epigenéticos, y alteraciones en el sistema inmune entre otros; responsables de la desregulación de diferentes vías celulares que afectan a la célula madre hematopoyética, provocando una hematopoyesis clonal. La hematopoyesis clonal es la consecuencia de que una célula madre hematopoyética, la cual puede diferenciarse en los distintos tipos de células sanguíneas, comience a producir células patológicas con la misma mutación genética.

Los síndromes mielodisplásicos suelen afectar a pacientes de edad avanzada, con una mediana de edad al diagnóstico superior a los 70 años y con una incidencia que supera  $20 \times 10^5$  personas por año y es superior en el sexo masculino. Algunos factores de riesgo incluyen haber recibido quimioterapia o radioterapia previamente, la exposición al tabaco o a productos químicos (1).

### Diagnóstico

El diagnóstico de los SMD requiere un aspirado de médula ósea representativo y una biopsia de médula ósea. Sobre dichas muestras se realizará un examen citomorfológico al microscopio, inmunofenotipo celular mediante técnicas de citometría de flujo y pruebas de biología molecular y citogenética.

Los “3 pilares” que apoyan el diagnóstico de síndrome mielodisplásico son (2):

1. Citopenias persistentes en ausencia de otra causa que las justifique.
2. Displasia morfológica en los elementos hematopoyéticos (hematíes, leucocitos y plaquetas).
3. Evidencia citogenética y/o molecular de hematopoyesis clonal.

#### 1. Citopenias

La mayoría de los pacientes presentan una cifra de hemoglobina inferior a 12 gramos por decilitro, un recuento de neutrófilos inferior a  $1.8 \times 10^9$  por litro y una cifra plaquetar inferior a  $150 \times 10^9$  por litro, aunque no siempre se cumple este requisito. Por lo tanto, podemos apoyarnos en otras características como displasia celular o alteraciones citogenéticas para llegar al diagnóstico, siempre y cuando se hayan excluido otras patologías que puedan ocasionar dichos rasgos.

#### 2. Displasia morfológica

Aunque no es patognomónica, sigue siendo un requisito indispensable para establecer el diagnóstico de SMD. La clasificación de la OMS (Organización Mundial de la Salud) de 2016 (3) y su posterior revisión de 2022 (8) recomienda que para que la displasia observada pueda considerarse significativa, tiene que estar presente en al menos el 10% de las células de un linaje.

#### 3. Evidencia de citogenética y/o molecular de clonalidad

Las alteraciones citogenéticas pueden estar presente entre el 50% y el 60% de los pacientes, por lo que es fundamental realizar un cariotipo (estudio de los cromosomas humanos) al momento del diagnóstico. Las anomalías cromosómicas más frecuentes en SMD son la pérdida del cromosoma 7, deleción del brazo largo del cromosoma 5 y 7 y ganancia de algunos cromosomas como el 8, el 19 y el 21.

Según la clasificación de la OMS de 2016 (4) y su reciente revisión en 2022 (5), la presencia de ciertas anomalías citogenéticas asociadas a SMD son

suficientes para establecer el diagnóstico. Dichas anomalías serán descritas posteriormente.

Por otra parte, las técnicas actuales de Secuenciación de Nueva Generación (NGS) muestran que alrededor del 90% de pacientes con SMD presentan 1 o más mutaciones oncogénicas (16). El problema que ocasionan este tipo de técnicas es que no están estandarizadas y por lo tanto no son reproducibles y pueden estar afectadas por la gran variabilidad entre centros (6). Con la excepción de las mutaciones en los genes *TP53* y *SF3B1*, reconocidas recientemente por la clasificación tanto de la OMS/22 (8) y la ICC/22 (International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias) (9) como entidades diferenciadas, el resto de las alteraciones moleculares no son patognomónicas de los SMD, por lo tanto, el papel principal de la NGS en el momento actual se relaciona con la estratificación pronóstica.

Diferentes estudios han evaluado el impacto pronóstico de las alteraciones moleculares en pacientes con SMD. Entre ellas, mutaciones somáticas en genes *TP53*, *EZH2*, *ETV6*, *RUNX1*, *ASXL1* y *SRSF2* se relacionan con un mayor riesgo de progresión a leucemia mieloide aguda y menor supervivencia global. En el otro extremo, la detección de mutaciones en *SF3B1* en pacientes con SMD se relaciona con un pronóstico favorable, caracterizado por una supervivencia global superior y una menor incidencia de progresión a leucemia mieloide aguda (LMA) (7).

### Clasificación

Recientemente se han revisado y actualizado las guías de clasificación de los SMD. Tanto la clasificación de la OMS de 2022 (8) y la clasificación de la ICC de 2022 (9), establecen los subtipos de SMD en base a criterios citológicos, citogenéticos y moleculares.

En la **tabla 1** se hace referencia a la clasificación de los SMD según la clasificación de la OMS de 2022. Agrupan los SMD en 2 grupos en función de si presentan anomalías genéticas definidas o alteraciones morfológicas:

1. Según la presencia de ciertas alteraciones genéticas se definen 3 grupos de SMD: SMD con bajo recuento de blastos (células sanguíneas patológicas productoras de las distintas neoplasias hematológicas) y delección del brazo largo del cromosoma 5 (5q), SMD con bajo recuento de blastos y presencia de mutación en *SF3B1*, y SMD con mutación bialélica del gen *TP53* (gen supresor de tumores).
2. Según la morfología celular se definen 3 grupos: SMD con bajo recuento de blastos (presencia de menos del 5% de blastos en médula ósea y del 2% en sangre periférica, en ausencia de las mutaciones anteriormente mencionadas), SMD hipoplásico, relacionado con alteraciones inmunomediadas por linfocitos T y SMD con exceso de blastos, a su vez subdividido en 3 grupos (1. SMD-exceso de blastos 1 (presencia entre el 5% y el 9% de blastos en médula ósea y entre el 2% y el 4% de blastos en sangre periférica), 2. SMD-exceso de blastos 2 (presencia entre el 10% y el 19% de blastos en médula ósea y entre el 5% y el 19% de blastos en sangre periférica o presencia de bastones de Auer) y SMD con presencia de fibrosis en médula ósea.

	Blasts	Cytogenetics	Mutations
<b>MDS with defining genetic abnormalities</b>			
MDS with low blasts and isolated 5q deletion (MDS-5q)	<5% BM and <2% PB	5q deletion alone, or with 1 other abnormality other than monosomy 7 or 7q deletion	
MDS with low blasts and <i>SF3B1</i> mutation <sup>a</sup> (MDS- <i>SF3B1</i> )		Absence of 5q deletion, monosomy 7, or complex karyotype	<i>SF3B1</i>
MDS with biallelic <i>TP53</i> inactivation (MDS-bi <i>TP53</i> )	<20% BM and PB	Usually complex	Two or more <i>TP53</i> mutations, or 1 mutation with evidence of <i>TP53</i> copy number loss or cnLOH
<b>MDS, morphologically defined</b>			
MDS with low blasts (MDS-LB)	<5% BM and <2% PB		
MDS, hypoplastic <sup>b</sup> (MDS-h)			
MDS with increased blasts (MDS-IB)			
MDS-IB1	5–9% BM or 2–4% PB		
MDS-IB2	10–19% BM or 5–19% PB or Auer rods		
MDS with fibrosis (MDS-f)	5–19% BM; 2–19% PB		

Tabla 1. Clasificación de los SMD según la OMS 2022.

La **tabla 2** hace referencia a la clasificación de los SMD según la clasificación de la ICC de 2022. Agrupa a los SMD en 7 grupos:

1. SMD con bajo recuento de blastos y mutación en *SF3B1*.
2. SMD con delección del brazo largo del cromosoma 5 (5q).
3. SMD no especificado (NOS) sin displasia. Pacientes con citopenias y ausencia de displasia, citogenética caracterizada por presentar monosomía 7/delección del brazo largo del cromosoma 7 (7q) o que presenten un cariotipo complejo (más de 3 alteraciones cromosómicas) y ausencia de delección del 5q, mutación en *TP53* o mutación en *SF3B1*.
4. SMD no especificado (NOS) con displasia en una línea sanguínea.
5. SMD no especificado (NOS) con displasia multilínea.
6. SMD con exceso de blastos: porcentaje de blastos entre el 5% y el 9% en médula ósea y entre el 2% y el 9% en sangre periférica. La presencia de exceso de blastos concede un riesgo elevado de progresión a LMA y por lo tanto reemplazaría a los subtipos previamente descritos, excepto los SMD con mutación en *TP53*.
7. LMA/SMD con mutaciones en genes relacionados con mielodisplasia (*ASXL1*, *BCOR*, *EZH2*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *STAG2*, *U2AF1* o *ZRSR2*), donde una cifra de blastos entre el 10% y el 19% sería definitoria de LMA/SMD.

## Mutación en SF3B1, impacto pronóstico en pacientes con SMD

	Dysplastic lineages	Cytopenias	Cytoses*	BM and PB Blasts	Cytogenetics†	Mutations
MDS with mutated SF3B1 (MDS-SF3B1)	Typically ≥1‡	≥1	0	<5% BM <2% PB	Any, except isolated del(5q), -7/del(7q), abn3q26.2, or complex	SF3B1 (≥ 10% VAF), without multi-hit TP53, or RUNX1
MDS with del(5q) [MDS-del(5q)]	Typically ≥1‡	≥1	Thrombocytosis allowed	<5% BM <2% PB§	del(5q), with up to 1 additional, except -7/del(7q)	Any, except multi-hit TP53
MDS, NOS without dysplasia	0	≥1	0	<5% BM <2% PB§	-7/del(7q) or complex	Any, except multi-hit TP53 or SF3B1 (≥ 10% VAF)
MDS, NOS with single lineage dysplasia	1	≥1	0	<5% BM <2% PB§	Any, except not meeting criteria for MDS-del(5q)	Any, except multi-hit TP53, not meeting criteria for MDS-SF3B1
MDS, NOS with multilineage dysplasia	≥2	≥1	0	<5% BM <2% PB§	Any, except not meeting criteria for MDS-del(5q)	Any, except multi-hit TP53,; not meeting criteria for MDS-SF3B1
MDS with excess blasts (MDS-EB)	Typically ≥1‡	≥1	0	5-9% BM, 2-9% PB§	Any	Any, except multi-hit TP53
MDS/AML	Typically ≥1‡	≥1	0	10-19% BM or PB	Any, except AML-defining¶	Any, except NPM1, bZIP CEBPA or TP53

Tabla 2. Clasificación de los SMD según la ICC 2022.

En la **tabla 3** se hace referencia a la mutación en el gen TP53. Diferenciando SMD, SMD/LMA y LMA con TP53 mutado. Se ha realizado esta clasificación debido a la importancia pronóstica que ocasiona dicha mutación, ya que otorga un comportamiento muy agresivo de la enfermedad y un pronóstico infausto independientemente de la cifra de blastos y de la expresión de otras mutaciones o características citogenéticas.

Type	Cytopenia	Blasts	Genetics
MDS with mutated TP53	Any	0-9% bone marrow and blood blasts	Multi-hit TP53 mutation* or TP53 mutation (VAF > 10%) and complex karyotype often with loss of 17p†
MDS/AML with mutated TP53	Any	10-19% bone marrow or blood blasts	Any somatic TP53 mutation (VAF > 10%)
AML with mutated TP53	Not required	≥20% bone marrow or blood blasts or meets criteria for pure erythroid leukemia	Any somatic TP53 mutation (VAF > 10%)

Tabla 3. Neoplasias mieloides con mutación en TP53.

### Pronóstico

La correcta estratificación pronóstica de los pacientes con SMD es fundamental para establecer la indicación de tratamiento. Son varios los modelos pronósticos empleados en la práctica clínica, desde el inicial

International Prognostic Scoring System (IPSS) (10) hasta el más ampliamente empleado IPSS-R (International Prognostic Scoring System-Revised) (11). Ambos se basan en características hematológicas (número y severidad de las citopenias y porcentaje de blastos en médula ósea) y anomalías citogenéticas, estableciendo varios grupos pronósticos con diferencias en expectativa de supervivencia y riesgo de progresión leucémica (17).

Con la reciente incorporación de las alteraciones moleculares anteriormente referidas, el International Working Group for Prognosis in MDS (IWG-PM) ha desarrollado un nuevo modelo pronóstico (IPSS Molecular) (12) en pacientes con SMD. Este estudio incluyó un amplio número de pacientes analizando el impacto de diferentes mutaciones somáticas junto a los clásicos parámetros hematológicos y citogenéticos. Este modelo diferencia hasta 6 nuevos grupos pronósticos: Muy bajo, Bajo, Moderado bajo, Moderado alto, Alto, Muy alto. En comparación con el anterior IPSS-R, el IPSS-M ha mejorado la estratificación pronóstica de los pacientes con SMD en términos de supervivencia global y riesgo de progresión a leucemia aguda, además de reclasificar un porcentaje significativo de pacientes con la adición de estas alteraciones moleculares.

Hay además varios aspectos relevantes a raíz de la aplicación del IPSS-M. En concreto uno de ellos es la mejor categorización pronóstica de los pacientes con SMD y mutación en *SF3B1*.

#### *Mutación en SF3B1*

El gen *SF3B1* codifica la subunidad 1 del complejo de splicing 3b, que es un componente central de las ribonucleoproteínas nucleares pequeñas U2 que reconoce el sitio 3' de ensamblaje en las uniones intrón-exón.

La mutación en el gen *SF3B1* es una de las mutaciones más frecuentes en pacientes con SMD, está presente en 1/3 de pacientes con SMD y entre un 65-75% en pacientes con SMD que presentan sideroblastos en anillos (**figura 1**) (13).

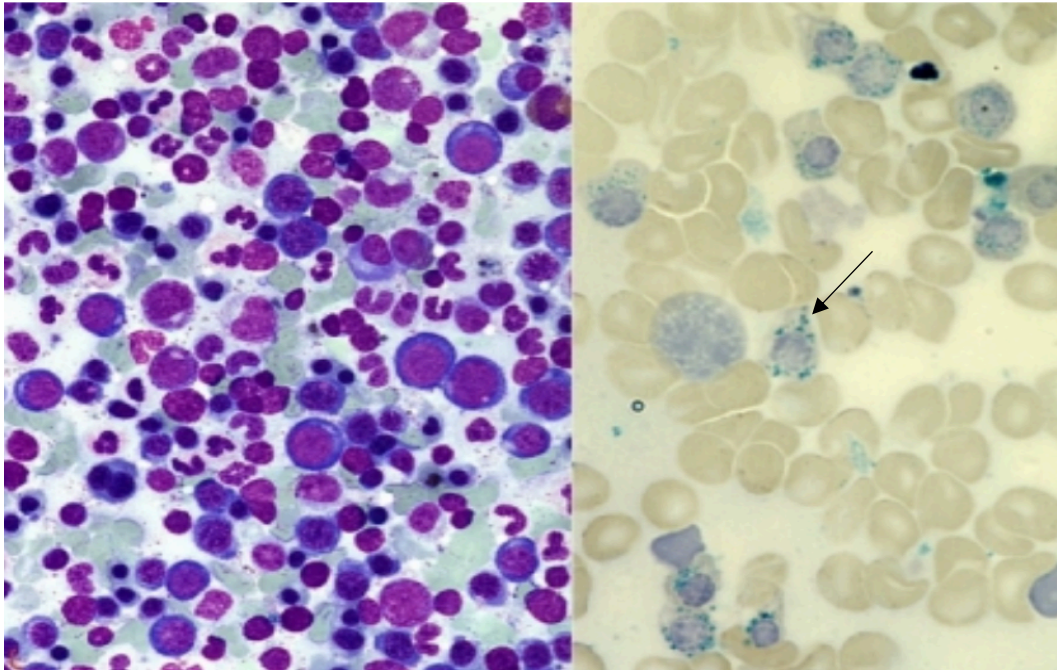


Figura 1. Sideroblastos en anillo. Imagen obtenida del atlas del Grupo Español de Citología

Los pacientes con SMD y mutaciones en *SF3B1* presentan mayor número de sideroblastos en anillo y, a menudo, tienen un recuento de plaquetas más alto, menos citopenias, y menor porcentaje de blastos comparado con los pacientes sin mutaciones en este gen. Numerosos estudios han demostrado que los pacientes que presentan mutación en *SF3B1* presentan un pronóstico favorable, con menor riesgo de progresión a leucemia mieloide aguda y mayor supervivencia global (14).

Actualmente, estos pacientes son globalmente considerados como un subgrupo de bajo riesgo en base a los datos de supervivencia global. El IWG-PM ha realizado un análisis por conglomerados dividiendo a los pacientes con mutación en *SF3B1* en 3 grupos independientes en función de la presencia de otras alteraciones citogenéticas o moleculares adicionales, que son los siguientes:

1. *SF3B1*<sup>5q</sup>: aquellos pacientes con mutación en *SF3B1* y presencia de delección del 5q (brazo largo del cromosoma 5).



2. SF3B1<sup>β</sup>: aquellos pacientes con mutación en SF3B1 que a su vez presentaban otra co-mutación en otros genes, entre ellos: BCOR, BCORL1, NRAS, RUNX1, SRSF2 o STAG2.
3. SF3B1<sup>α</sup>: pacientes con mutación en SF3B1 y otra mutación o característica citogenética diferente a las anteriores.

Los resultados favorables en términos de supervivencia global y supervivencia libre de progresión a leucemia mieloide aguda fueron para el subgrupo SF3B1<sup>α</sup> tal y como se detalla en la **figura 2**.

En la **figura 2** se observan 3 gráficas donde se ha realizado un análisis de supervivencia según el estimado Kaplan-Meier. Se han analizado 4 grupos: pacientes con SF3B1 wild type, SF3B1<sup>5q</sup>, SF3B1<sup>β</sup>, SF3B1<sup>α</sup>. De izquierda a derecha, se han analizado la supervivencia libre de LMA, supervivencia global e incidencia acumulada de transformación a LMA. Se demuestra de manera significativa que el grupo SF3B1<sup>α</sup> es el que presenta los resultados más favorables respecto a los otros, mayor supervivencia libre de leucemia, mayor supervivencia global y menor incidencia de transformación leucémica.

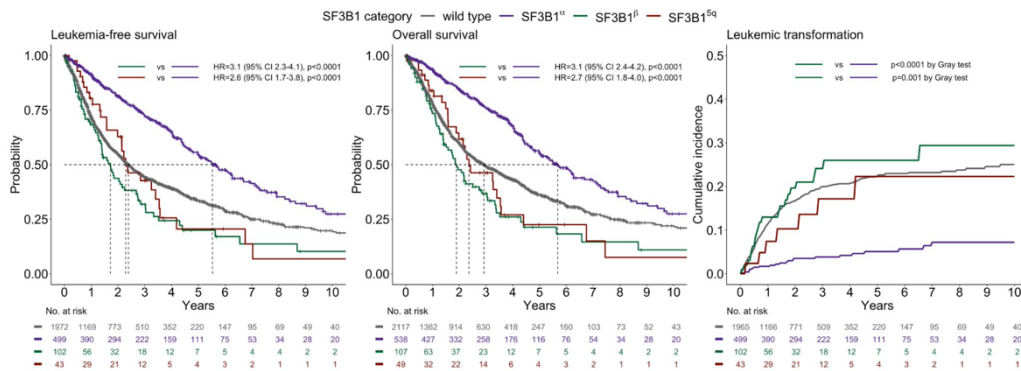


Figura 2. Supervivencia sin progresión a LMA, supervivencia global y probabilidad de transformación leucémica según la categoría del SF3B1.

A partir de un estudio realizado por la Universidad de Texas (*MD Anderson Cancer Center*) donde se analizaron 509 pacientes con diagnóstico reciente de SMD, sin tratamiento, divididos en pacientes con mutación en *SF3B1* y pacientes sin *SF3B1* mutado (wild type). Se concluyó en el análisis de subgrupos, que el buen pronóstico que la mutación *SF3B1* otorgaba se debía al tipo de proteína generada (hotspot). Únicamente el subgrupo de pacientes que expresaban la proteína K700E (18) tenían resultados favorables en cuanto a supervivencia global (15).

## JUSTIFICACIÓN

Los pacientes con síndromes mielodisplásicos con mutación en *SF3B1* son considerados un grupo de pacientes con buen pronóstico y bajo riesgo de progresión a LMA. Sin embargo, este pronóstico favorable depende de la presencia de otras características citogenéticas y moleculares adicionales. Es necesario ampliar e indagar en el estudio molecular para poder categorizar de una forma más adecuada a estos pacientes y así poder ofrecer una mejor estratificación pronóstica y adecuación del tratamiento.

## OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio es evaluar el impacto pronóstico en términos de supervivencia global (SG) y riesgo de progresión leucémica en pacientes con SMD y mutación en *SF3B1*.

Los objetivos secundarios son los siguientes:

- Analizar las características clínico-biológicas de los pacientes con SMD.
- Identificar qué tipo de mutación es más frecuente en pacientes con SMD.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Ámbito de estudio

El estudio tiene lugar en el Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR) de Sevilla, en el Servicio de hematología y Hemoterapia.

El HUVR pertenece al sistema sanitario público de Andalucía y conforma un complejo hospitalario multicéntrico con más de 8.400 profesionales a su cargo. El hospital atiende a una población básica 557.576 usuarios y varias de sus especialidades son de referencia para toda la provincia de Sevilla y parte de la provincia de Huelva. Es el mayor complejo hospitalario del sistema sanitario andaluz y el segundo en España.

La Unidad de Gestión Clínica de Hematología desarrolla una importante actividad asistencial dentro del HUVR, está formada por más de 100 profesionales, se divide en dos secciones, sección clínica y sección de laboratorio. Es centro de referencia en la realización de trasplante alogénico de médula ósea y recientemente ha conseguido la acreditación y la autorización por parte de las autoridades del Ministerio de Sanidad para la realización de terapia con células CART.

### Periodo de estudio

Los datos han sido recogidos desde enero de 2011 hasta abril de 2023. La recogida de datos se inició en tal fecha porque fue cuando se caracterizó dicha mutación y, además, se demostró que estaba relacionada con una mayor supervivencia global y un riesgo menor de progresión a leucemia mieloide aguda en los pacientes afectados por un síndrome mielodisplásico. Hoy se siguen incluyendo pacientes en la base de datos del estudio que han sido diagnosticados recientemente de SMD y que presentan dicha mutación, con el fin de aumentar el tamaño muestral y actualizar en el futuro los resultados obtenidos.

### Tipo de estudio

Se trata de un estudio observacional, descriptivo y retrospectivo.

### Estrategia de búsqueda bibliográfica

Se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en la base de datos sanitaria PubMed entre los meses de enero y febrero de 2023. Se incluyeron revisiones sistemáticas y narrativas, guías de práctica clínica, ensayos clínicos y estudios observacionales. Se han incluido publicaciones escritas en inglés y en español.

El periodo de búsqueda se limitó desde 2011 hasta 2023. Se combinaron los siguientes términos: *Myelodysplastic syndrome AND SF3B1 mutation AND K700E*, el número de resultados de esta búsqueda fue de 132. Por otra parte, se llevó a cabo una revisión manual de la lista de referencias bibliográficas de los estudios más relevantes incluidos.

Los estudios más relevantes incluidos han sido los siguientes:

*Bernard, E., Tuechler, H, et al. Molecular International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. NEJM Evid. 2022, 1. DOI: 10.1056/EVIDoa2200008.*

En este artículo se describe la nueva clasificación pronóstica de los pacientes con SMD (IPSS-Molecular) según las mutaciones presentes al diagnóstico, en ella también se subdivide a los pacientes con mutación en SF3B1 en los 3 subgrupos previamente descritos, confirmándose que el buen pronóstico de los pacientes con mutación de SF3B1 depende de la presencia o ausencia de otras características citogenéticas y moleculares.

*Kanagal-Shamanna R, Montalban-Bravo G, et al. Only SF3B1 mutation involving K700E independently predicts overall survival in myelodysplastic syndromes. Cancer. 2021 Oct 1;127(19):3552-3565. doi: 10.1002/cncr.33745. Epub 2021 Jun 23. PMID: 34161603; PMCID: PMC10015977.*

Estudio retrospectivo donde se confirma que el buen pronóstico de los pacientes que presentan mutación en SF3B1 es debido a la expresión de la proteína K700E.

### Criterios de inclusión

Pacientes mayores de 18 años, diagnosticados de síndrome mielodisplásico con mutación en el *SF3B1* entre 2011 y 2023.

### Criterios de exclusión

Se excluyen aquellos pacientes que mostraron su rechazo o bien un representante legal, a la participación en el estudio.

### Selección de la muestra

La muestra ha sido seleccionada a partir de la población de pacientes con síndromes mielodisplásicos con mutación en *SF3B1* en seguimiento y tratamiento en las consultas de síndrome mielodisplásico del Hospital Universitario Virgen del Rocío.

Se ha obtenido una muestra de 46 pacientes.

### Mediciones

→ Variables relacionadas con el paciente:

- Sexo: variable dicotómica que toma los valores: hombre; mujer.
- Edad: variable cuantitativa discreta, medida en años.
- Número de blastos al diagnóstico: variable cuantitativa discreta, medida en porcentaje.
- Hemoglobina: variable cuantitativa continua, medida en gramos/decilitros. Valores normales: 12.0 -16.0 gramos/decilitros.
- Plaquetas: variable cuantitativa continua, medida en  $10^9$ /litro. Valores normales:  $130-450 \times 10^9$  por litro.
- Neutrófilos polimorfonucleares (PMN): variable cuantitativa continua, medida en  $10^9$  por litro. Valores normales:  $1.70-7.50 \times 10^9$  por litro.
- Cariotipo: variable cualitativa nominal (cariotipo normal diploide 46 cromosomas XX (mujer) y 46 XY (hombre), delección del brazo largo

del cromosoma 5 (del 5q) y cariotipo complejo (más de 3 alteraciones cromosómicas)).

→ Variables relacionadas con la clasificación pronóstica de los SMDs:

- International Prognostic Scoring System (IPSS): variable cualitativa nominal (4 grupos pronósticos: bajo, intermedio-1, intermedio-2 y alto).
- Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R): variable cualitativa nominal (5 grupos pronósticos: muy bueno, bueno, intermedio, pobre y muy pobre).
- Molecular International Prognostic Scoring System (IPSS-M): variable cualitativa nominal (6 grupos pronósticos: muy bajo, bajo, moderadamente bajo, moderadamente alto, alto y muy alto).
- Mutaciones encontradas en el paciente: variable cualitativa nominal. Se estudiaron las siguientes mutaciones: *ABL*, *BRAF*, *CBL*, *CSF3R*, *DNMT3A*, *FLT3*, *GATA2*, *HRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *JAK2*, *KIT*, *KRAS*, *MPL*, *MYD88*, *NPM1*, *NRAS*, *PTPN11*, *SETBP1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *WT1* y regiones codificantes completas de *ASXL1*, *BCOR*, *CALR*, *CEBPA*, *EVEV6*, *EZH2*, *IKZF1*, *NF1*, *PHF6*, *PRPF8*, *RB1*, *RUNX1*, *SH2B3*, *STAG2*, *TET2*, *TP53*, *ZRSR2*.
- Subgrupo según las mutaciones adicionales encontradas a la mutación SF3B1 (*SF3B1*<sup>5q</sup>, *SF3B1*<sup>β</sup>, *SF3B1*<sup>α</sup>): variable cualitativa nominal.
- Proteína codificada: variable cualitativa nominal (K700E versus no K700E).

### Análisis estadístico

Ha sido realizado un análisis estadístico de diferentes variables de pacientes diagnosticados de SMD con mutación en el *SF3B1*. Actualmente estos pacientes son conocidos como pacientes de bajo riesgo de progresión a LMA.



Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el software estadístico IBM SPSS Statistic versión 26 (<https://www.ibm.com/es-es/products/spss-statistics>).

En primer lugar, se realizó un análisis descriptivo de los datos, en las variables cualitativas se utilizó la frecuencia absoluta y la frecuencia relativa, y en las variables cuantitativas se midieron los siguientes parámetros: media, mediana, rango, rango intercuartílico y desviación típica.

En segundo lugar, para estudiar la hipótesis de independencia entre dos variables cualitativas hemos utilizado el test exacto de Fisher, con un nivel de significación estadística del 0,05. Se ha utilizado este estadístico de contraste porque el tamaño muestra fue pequeño, con grupos inferiores a 30 pacientes.

En tercer lugar, se realizó un análisis de supervivencia mediante el estimador de Kaplan Meier para estimar la función de supervivencia y el test de log-rank, utilizado para comparar las estimaciones de las funciones de supervivencia de dos grupos en cada unidad de tiempo en el que ocurre un evento.

#### [Aspectos éticos](#)

Este estudio ha sido realizado respetando la legislación relativa a la protección de datos de carácter personal, en particular el Reglamento General de Protección de Datos (RGPD), que entró en vigor el 25 de mayo de 2018; la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales; y en base a los principios éticos para la investigación biomédica en seres humanos establecidos en la Declaración de Helsinki y en sus posteriores ratificaciones.

Así mismo, se ha mantenido en todo momento el anonimato de los pacientes y se ha aplicado el rigor científico en la medida de lo posible. Se ha solicitado el consentimiento informado a los pacientes para acceder a los datos de la historia clínica (a los padres o tutores legales en caso de pacientes menores de edad).

## RESULTADOS

### Análisis descriptivo

Variables relacionadas con el diagnóstico de SMD

#### → Variables cuantitativas

En la **tabla 4** se presentan los estimadores de las variables continuas, la edad mediana fue de 71 años. El número de blastos al diagnóstico fue muy bajo, la mediana fue menor al 1%, tal y como es esperable al tratarse de una enfermedad de bajo riesgo de progresión a leucemia mieloide aguda (donde sería necesario un número de blastos superior al 20%), el resto de los parámetros hematológicos (hemoglobina, plaquetas y neutrófilos (PMN)) presentaban valores medianos próximos a la normalidad.

Variable	Media	Mediana	Rango	Desv. típica	RIC
Edad al diagnóstico en años (años)	70,20	71	(50,85)	8,56	(63,78)
Nº blastos al diagnóstico (%)	0,95	0,5	(0,6)	1,47	(0,1)
Hemoglobina (g/dl)	9,6	10,1	(6,2, 13,8)	2,59	(8,8, 10,9)
Plaquetas (x10e9/L)	287,48	291	(34, 611)	130,60	(236, 378)
Neutrófilos polimorfonucleares (x10e9/L)	3,08	3	(0,70,12)	1,90	(1,65,4)

N=46

Tabla 4. Variables cuantitativas relacionadas con el diagnóstico de SMD

→ Significado de las medidas empleadas:

- N: tamaño muestral.
- Media: media aritmética (medida de centralización).
- Rango: diferencia entre el número mínimo y número máximo (medida de centralización).
- Mediana: el valor que ocupa la posición central del conjunto de datos si los ordenamos de mayor a menor o viceversa.

- Desviación típica (desv. Típica): desviación media de una variable respecto de su media aritmética (medida de dispersión).
- Rango intercuartílico (RIC): Diferencia entre el percentil 75 y el percentil 25, es una medida de dispersión, longitud del intervalo en el que se encuentran el 50% de los valores muestrales que no son ni los más grandes ni los más pequeños.

En la **figura 3** se presenta el Histograma de la variable edad. Se observa que los pacientes enfermos tienen edades avanzadas y la distribución es próxima a la normalidad.

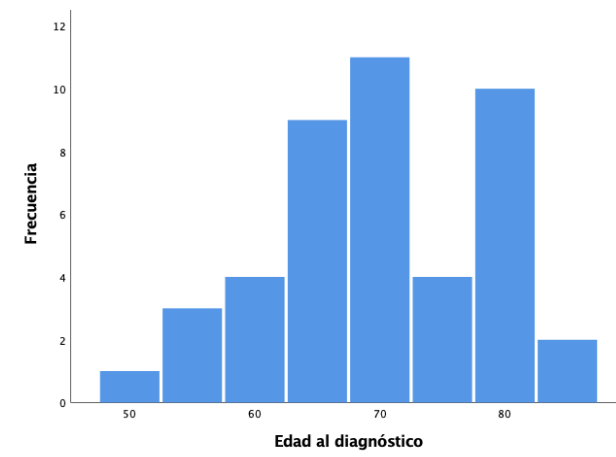


Figura 3. Histograma variable edad al diagnóstico

En la **figura 4** se presenta el Histograma de la variable número de blastos al diagnóstico. Se observa que la mayor parte de los pacientes presentaron un número de blastos al diagnóstico bajo.

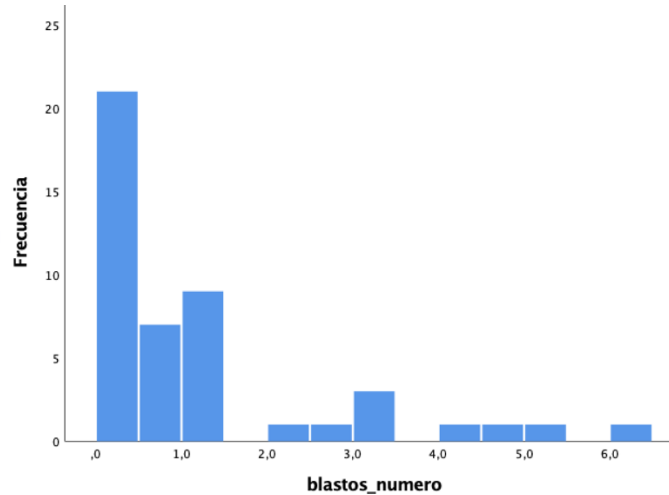


Figura 4. Histograma variable blastos al diagnóstico

En la **figura 5** se presenta el Histograma de la variable hemoglobina al diagnóstico. La cifra de hemoglobina fue superior a 10 gramos/decilitro en la mayor parte de los pacientes.

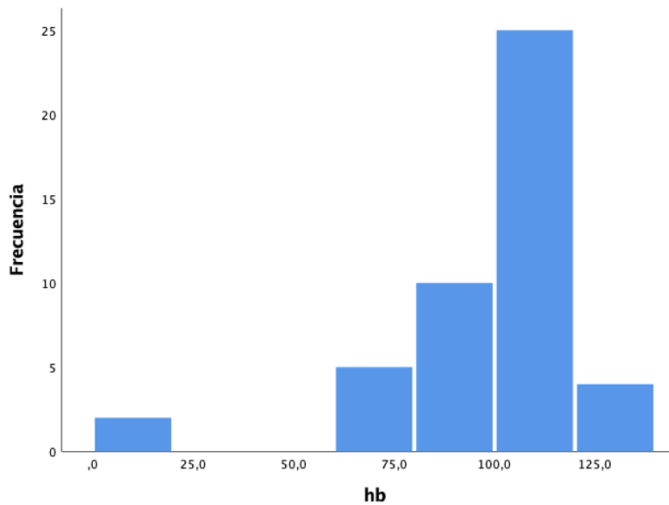


Figura 5. Histograma variable hemoglobina al diagnóstico

En la **figura 6** se presenta el Histograma de la variable plaquetas al diagnóstico. Las cifras de plaquetas mediana fue 291.000 por litro, es decir, normales, además, la distribución es próxima a la normalidad.

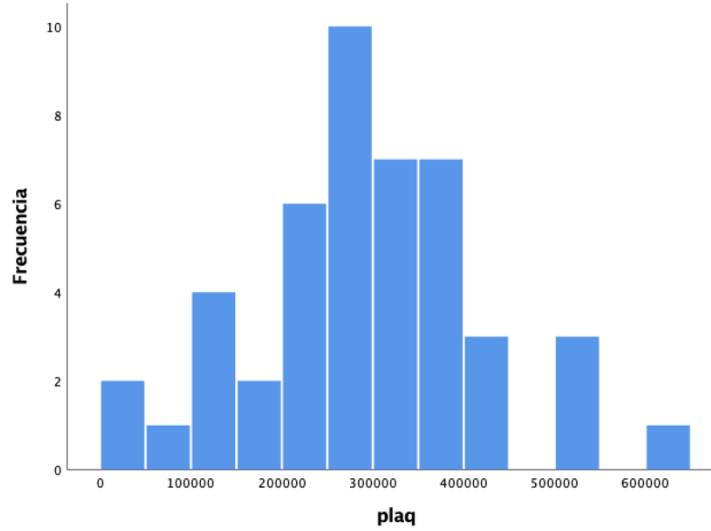


Figura 6. Histograma variable plaquetas al diagnóstico

En la **figura 7** se presenta el Histograma de la variable neutrófilos polimorfonucleares al diagnóstico. La mayoría de los pacientes presentaban una cifra de neutrófilos entre 2000 y 4000 por litro, es decir normal.

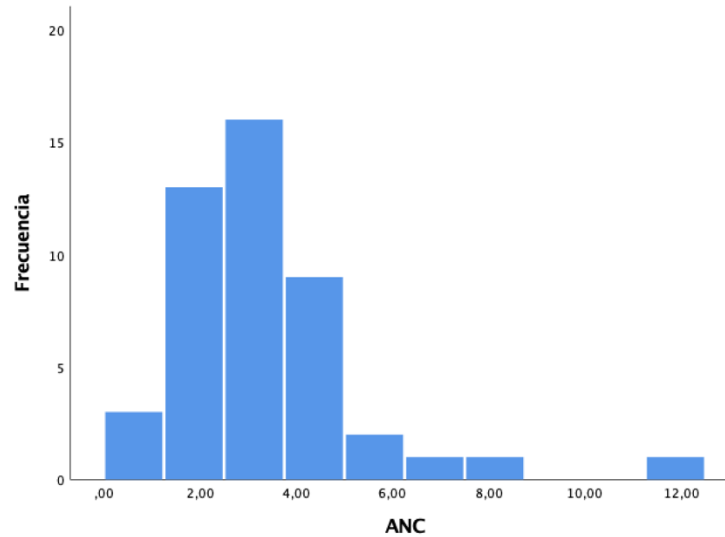


Figura 7. Histograma variable cifra de neutrófilos al diagnóstico

→ Variables cualitativas

En la **tabla 5** se presentan las variables cualitativas relacionadas con el diagnóstico de SMD. Destaca que la mayoría de los pacientes (39/46) presentaban un cariotipo diploide (normal, 46 XX en mujeres y 46 XY en hombres) al diagnóstico, característica que les confiere buen pronóstico.

	Frecuencia Absoluta (FA)	Frecuencia Relativa (FR)
<b>Sexo</b>		
- Hombres	19	40%
- Mujeres	27	60%
<b>Cariotipo</b>		
- Diploide	39	85%
- Delección del 5q	5	11%
- Cariotipo complejo	0	0%
- Otras no desfavorables	2	4%

Tabla 5. Variables cualitativas relacionadas con el diagnóstico de SMD

En la **figura 8** mostramos un gráfico de barras de la variable sexo. Según este gráfico han sido diagnosticadas un 20% más de mujeres que de hombres.

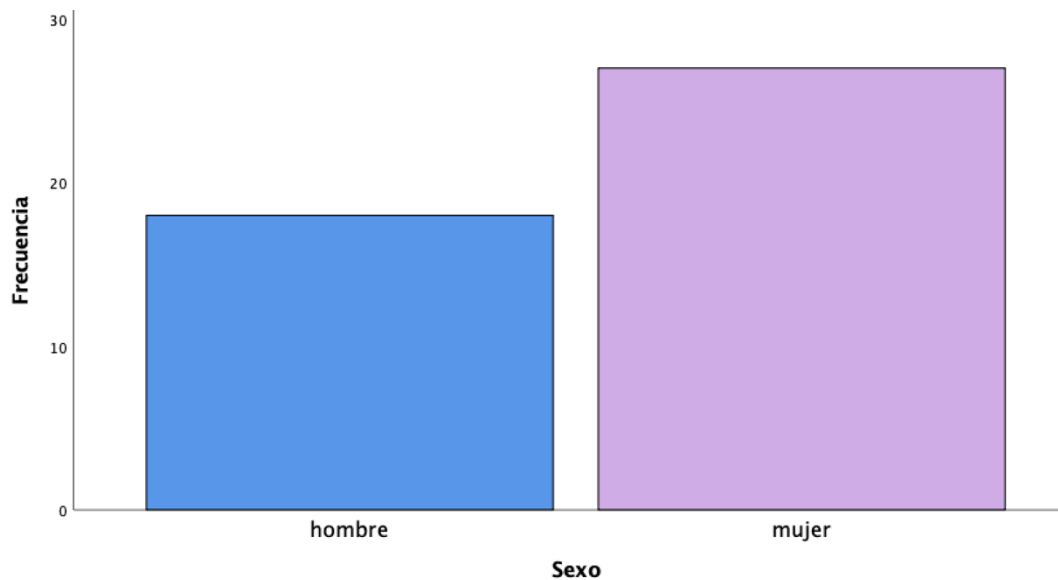


Figura 8. Gráfico de barras de la variable sexo

### Clasificación pronóstica

En la **tabla 6** se recogen los modelos pronósticos empleados en la práctica clínica.

El modelo inicial, IPSS clasifica a los pacientes en 4 grupos de riesgo: bajo, intermedio-1, intermedio-2 y alto. El IPSS-R es el más ampliamente utilizado en la práctica diaria, el cual clasifica a los pacientes en 5 categorías de riesgo: muy bajo, bajo, intermedio bajo, alto y muy alto. Y la nueva incorporación, el IPSS Molecular, el cual divide a los pacientes en 6 grupos de riesgo: muy bajo, bajo, moderadamente bajo, moderadamente alto, alto y muy alto.

También hemos categorizado de manera independiente en base al IPSS-M en 3 grupos de pacientes según presentaban la mutación en SF3B1 y otra característica molecular o citogenética (SF3B1<sup>5q</sup>, SF3B1<sup>β</sup>, SF3B1<sup>α</sup>).

<b>Grupos de riesgo según clasificación IPSS, Nº (%).</b>	<b>FA (FR)</b>
Bajo	37 (80,5%)
Int-1	9 (19,6%)
<b>Grupos de riesgo según clasificación IPSS-R, Nº (%)</b>	<b>FA (FR)</b>
Muy bajo	28 (60,9%)
Bajo	14 (30,3%)
Intermedio	3 (6,5%)
Alto	1 (2,2%)
<b>Grupos de riesgo según IPSS-M, Nº (%)</b>	<b>FA (FR)</b>
Muy bajo	24 (52,2%)
Bajo	13 (28,3%)
Moderado bajo	6 (13%)
Moderado alto/ alto/ muy alto	3 (6,5%)
<b>Subtipo SF3B1 según IPSS-M</b>	<b>FA (FR)</b>
SF3B1 <sup>5q</sup>	5 (10,9%)
SF3B1 <sup>β</sup>	3 (6,5%)
SF3B1 <sup>α</sup>	38 (82,6%)

Tabla 6. Clasificación pronóstica.

Destaca que el mayor porcentaje de pacientes, superior al 50%, se encuentra en los grupos de bajo riesgo según los distintos modelos



pronósticos. El 82,6% de los pacientes se pertenece al subgrupo SF3B1<sup>α</sup>, subgrupo que ha demostrado ser el que mejor pronóstico tiene, mayor supervivencia global y libre de progresión a LMA.

En la **figura 9** representamos un gráfico de sectores de la distribución de los pacientes según el IPSS-R, hemos representado este gráfico dado que es el modelo pronóstico más utilizado actualmente, el 60,9% de los pacientes estudiados se encuentran en la categoría de muy bajo riesgo.

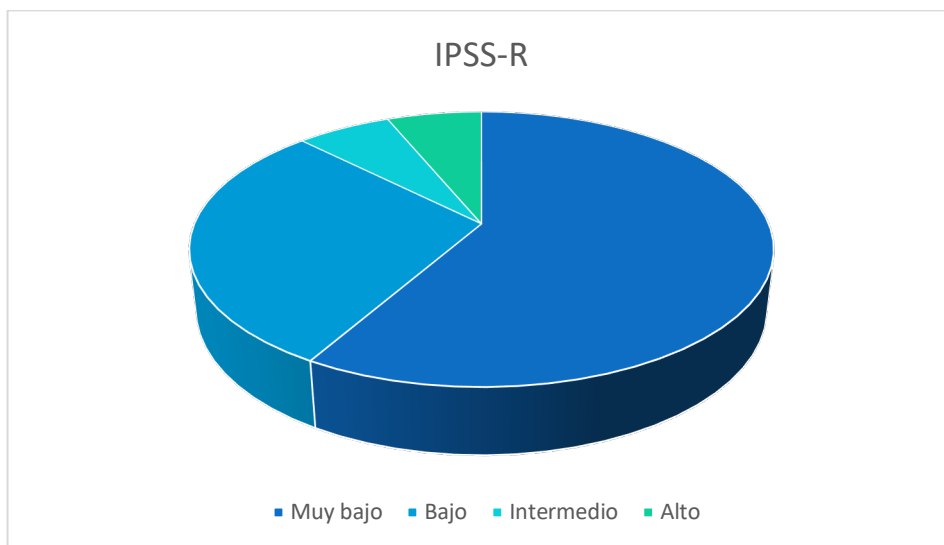


Figura 9. Gráfico de sectores de los distintos grupos de riesgo según la clasificación del IPSS-R

#### Características moleculares y citogenéticas

El estudio molecular al diagnóstico se realizó mediante secuenciación del ácido desoxirribonucleico (DNA) por NGS (panel Oncomine Myeloid Research, que incluye hotspots de ABL, BRAF, CBL, CSF3R, DNMT3A, FLT3, GATA2, HRAS, IDH1, IDH2, JAK2, KIT, KRAS, MPL, MYD88, NPM1, NRAS, PTPN11, SETBP1, SF3B1, SRSF2, U2AF1, WT1 y regiones codificantes completas de ASXL1, BCOR, CALR, CEBPA, ETEV6, EZH2, IKZF1, NF1, PHF6, PRPF8, RB1, RUNX1, SH2B3, STAG2, TET2, TP53, ZRSR2).

Todos los pacientes presentaron la mutación SF3B1 (100%). El 45% (21/46) de los pacientes evaluados presentaron mutación en SF3B1 como

única alteración, mientras que 11 pacientes (24%) presentaron una co-mutación adicional y el resto (31%) presentaron más de 3 mutaciones. Los genes adicionalmente mutados (en más del 10% de los pacientes) en orden decreciente incluyeron: *TET2* (24%) y *DNMT3A* (11%), mientras que 2/46 pacientes (4%) presentaron mutación en *TP53*. La representación gráfica de este hecho se representa en la **figura 10**.

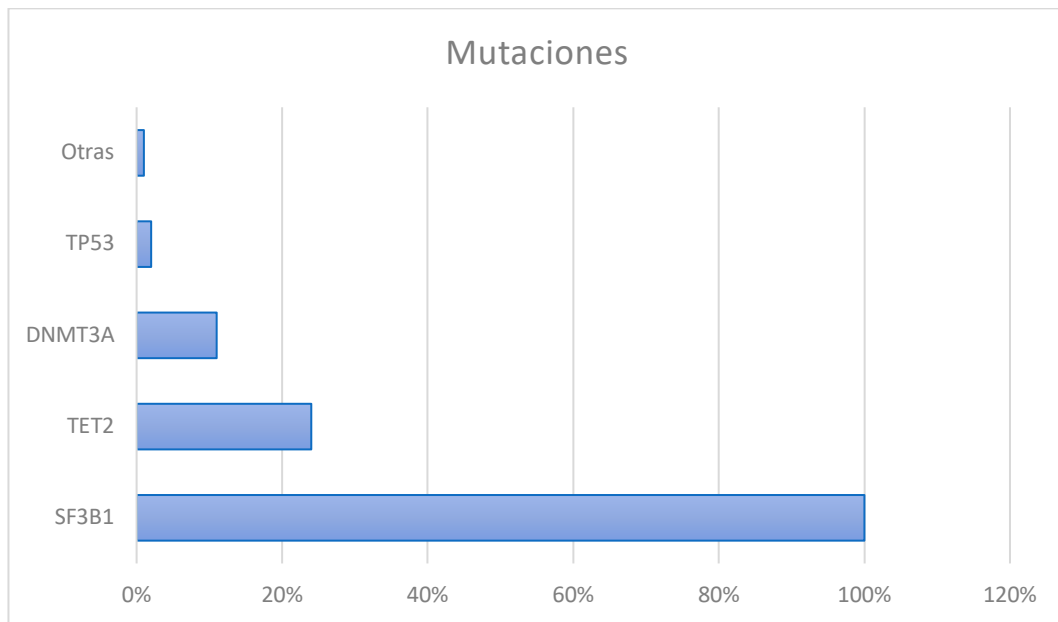


Figura 10. Mutaciones por NGS.

La mutación más frecuente en *SF3B1* resultó en la generación de la proteína K700E (cambio de lisina por ácido glutámico) en 26 pacientes, 56% de los casos, la cual se asocia con un pronóstico favorable. Se identificaron otras proteínas (623, E622D, K666E, K666N, K666Q, K666R, K666T, R625) con un tamaño muestral inferior a 4 y cuyo significado todavía no está bien explicado aún.

## Resultados de inferencia estadística

Distribución de la proteína K700E según los grupos pronóstico IPSS-R e IPSS-M.

A continuación, vamos a estudiar cómo se distribuye y relaciona la proteína K700E (proteína que otorga la característica de pronóstico favorable a los pacientes con mutación en el SF3B1 (15)) en los distintos grupos de riesgo en base a la clasificación IPSS-R (modelo actual) e IPSS-M.

### **1. Contraste de hipótesis de que la probabilidad de distribución de la proteína K700E es igual en los dos grupos de riesgo establecidos en el IPSS-R, para ello se plantea el siguiente contraste de hipótesis:**

*Hemos agrupado las distintas categorías de la clasificación IPSS-R en dos grupos, bajo riesgo (muy bajo y bajo) y alto riesgo (intermedio, alto y muy alto).*

- H0: probabilidad de que la presencia de la proteína K700E es igual en los dos grupos de riesgo de la clasificación IPSS-R.
- H1: probabilidad de que la presencia de la proteína K700E es distinta en los dos grupos de riesgo de la clasificación IPSS-R.

K700E	Si	No	Total
Muy bajo/ bajo riesgo	24	18	42
Intermedio/ alto/muy alto	1	3	4
<b>TOTAL</b>	25	21	46

*Tabla 7. Distribución de la proteína K700E según los grupos de riesgo establecidos en el IPSS-R.*

En la **tabla 7** se presenta la tabla de doble entrada de las variables: presencia la proteína K700E y la variable dicotómica IPSS-R (bajo riesgo y alto riesgo).

Para la realización del contraste de hipótesis de 2 variables cualitativas hemos empleado el test exacto de Fisher, método no paramétrico que relacionada 2 variables cualitativas independientes.

El resultado del contraste proporciona un **p-valor = 0.2404**, por lo que se acepta la hipótesis nula. En la **tabla 7** se observa que la frecuencia de aparición de la proteína K700E es mayor en el grupo de pacientes clasificados de bajo riesgo. Pero el contraste de hipótesis no lo demuestra, probablemente debido a que el tamaño muestral es pequeño.

**2. Contraste de hipótesis de que la probabilidad de la proteína K700E es igual en los dos grupos de riesgo establecidos por el IPSS-M, para ello se plantea el siguiente contraste de hipótesis:**

*Hemos agrupado los distintos subgrupos en bajo riesgo (muy bajo, bajo y moderado bajo) y en alto riesgo (alto y muy alto).*

- H0: probabilidad de que la presencia de la proteína K700E es igual en los dos grupos de riesgo de la clasificación IPSS-M.
- H1: probabilidad de que la presencia de la proteína K700E es distinta en los dos grupos de riesgo de la clasificación IPSS-M.

K700E	Si	No	Total
Muy bajo/bajo/moderado bajo	24	19	43
Alto/ muy alto	1	2	3
TOTAL	25	21	46

Tabla 8. Distribución de la proteína K700E según los grupos de riesgo establecidos en el IPSS-M.

En la **tabla 8** se presenta la tabla de doble entrada de las variables: presencia la proteína K700E y la variable dicotómica IPSS-M (bajo riesgo y alto riesgo).

Para la realización del contraste de hipótesis de 2 variables cualitativas hemos empleado el test exacto de Fisher, método no paramétrico que relacionada 2 variables cualitativas independientes.

El resultado del contraste proporciona un **p-valor = 0.4335**, por lo que se acepta la hipótesis nula. En la **tabla 8** se observa que la frecuencia de aparición de la proteína K700E es mayor en el grupo de pacientes clasificados de bajo riesgo. Pero el contraste de hipótesis no lo demuestra, probablemente debido a que el tamaño muestral es pequeño.

### **3. Contraste de hipótesis de la probabilidad de la proteína K700E es igual en los subgrupos de SF3B1 según la clasificación IWG-PM.**

Tal y como hemos descrito en la introducción, con la implantación del IPSS-M se ha conseguido una mejor categorización pronóstica en los pacientes con SMD y mutación en SF3B1. El *International Working Group for the Prognosis of MDS* (IWG-PM) realizó un análisis por conglomerados dividiendo a los pacientes con mutación en SF3B1 en 3 grupos independientes ( $SF3B1^{5q}$ ,  $SF3B1^{\beta}$ ,  $SF3B1^{\alpha}$ ), demostrando que el subgrupo de pacientes  $SF3B1^{\alpha}$  fue el que obtuvo resultados favorables en supervivencia libre de progresión a leucemia mieloide aguda y en supervivencia global (12). Por ello, en la siguiente tabla 2x2 hemos agrupados a los pacientes pertenecientes al subgrupo  $SF3B1^{5q}$ ,  $SF3B1^{\beta}$  frente al subgrupo  $SF3B1^{\alpha}$ .

- H0: probabilidad de que la presencia de la proteína K700E es inferior o igual en el subgrupo de pacientes  $SF3B1^{\alpha}$ .
- H1: probabilidad de que la presencia de la proteína K700E es superior en el subgrupo de pacientes  $SF3B1^{\alpha}$ .

K700E	SI	NO	Total
SF3B1 <sup>α</sup>	22	16	38
SF3B1 <sup>5q</sup> , SF3B1 <sup>β</sup>	3	5	8
TOTAL	25	21	46

Tabla 9. Distribución de la proteína K700E en los subgrupos de SF3B1 según la clasificación IWG-PM.

En la **tabla 9** se presenta la tabla de doble entrada de las variables: presencia la proteína K700E y la variable dicotómica clasificación IWG-PM.

Para la realización del contraste de hipótesis de 2 variables cualitativas hemos empleado el test exacto de Fisher, método no paramétrico que relacionada 2 variables cualitativas independientes.

El resultado del contraste proporciona un **p-valor = 0.2537**, por lo que se acepta la hipótesis nula. En la **tabla 9** se observa que la frecuencia de aparición de la proteína K700E es superior en el grupo de pacientes SF3B1<sup>α</sup>. Pero el contraste de hipótesis no lo demuestra, probablemente debido a que el tamaño muestral es pequeño.

Relación entra la presencia de la proteína K700E y riesgo de progresión a leucemia mieloide aguda (LMA)

**1. Probabilidad de que la progresión a LMA es igual en los pacientes independientemente de la presencia o ausencia de la proteína K700E, para ello se plantea el siguiente contraste de hipótesis:**

- H0: probabilidad de que la presencia de la proteína K700E es igual en los pacientes que progresan a LMA y en los que no progresan a LMA.
- H1: probabilidad de que la presencia de la proteína K700E es distinta en los pacientes que progresan a LMA y en los que no progresan a LMA.

K700E	SI	NO	Total
LMA-SI	0	5	5
LMA-NO	25	16	41
TOTAL	25	21	46

Tabla 10. Riesgo de progresión a LMA según la presencia de K700.

En la **tabla 10** se presenta la tabla de doble entrada de las variables: presencia la proteína K700E y la variable dicotómica progresión a LMA (LMA-Si y LMA-No).

Para la realización del contraste de hipótesis de 2 variables cualitativas hemos empleado el test exacto de Fisher, método no paramétrico que relacionada 2 variables cualitativas independientes.

El resultado del contraste proporciona un **p-valor = 0.01**, por lo que se rechaza la hipótesis nula. Del total de 46 pacientes, 5 pacientes progresaron a LMA, esos 5 pacientes no expresaron la proteína K700E, mientras que ninguno de los pacientes K700E progresó a LMA. Es decir, se demuestra de manera significativa que la no expresión de la proteína K700E está relacionada con el desarrollo de LMA.

#### Análisis de supervivencia

En este apartado hemos realizado un análisis de supervivencia basado en el estimador de Kaplan-Meier y en el método log-rank.

El estimador de Kaplan-Meier se utiliza para estimar la función de supervivencia de los sujetos en un contexto de censura. En nuestro caso estamos interesados en estimar la mediana de supervivencia del grupo de pacientes con síndrome mielodisplásico y mutación en SF3B1 **figura 11**.

Por otro lado, vamos a utilizar el método log-rank. Este método se utiliza para comparar la función de supervivencia entre dos grupos distintos.

Dicho análisis estará representado en las **figuras 12 y 13**.

Análisis de supervivencia global de pacientes con SMD y mutación en SF3B1  
En la **figura 11** se presenta el estimador de Kaplan-Meier de la función de supervivencia para los pacientes con SMD y mutación en SF3B1.

Observamos que la mediana de supervivencia global (SG) de la cohorte SF3B1<sup>mut</sup> ha sido de 119 meses (IC 95%: 85-152m).

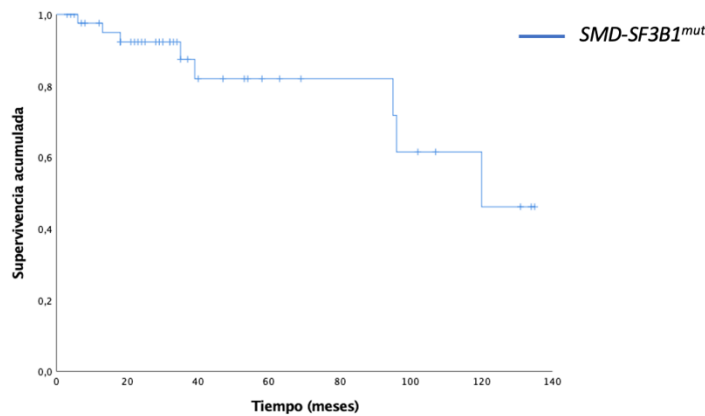


Figura 11. Supervivencia global SMD-SF3B1<sup>mut</sup>.

Análisis de supervivencia de pacientes con SMD y mutación en SF3B1 versus SMD de bajo riesgo sin mutación en SF3B1

Para este análisis hemos utilizado el método log-rank, donde se comparan 2 grupos: un grupo formado por pacientes con síndrome mielodisplásico y mutación en SF3B1 y otro grupo formado por pacientes con síndrome mielodisplásico sin mutación en SF3B1 (SMD-SF3B1<sup>wild type(wt)</sup>), pero también clasificados como pacientes de bajo riesgo en base a otras características (este grupo ha sido obtenido a partir de otra base de datos, con un tamaño muestral de 167 pacientes, proporcionada por el médico especialista de la consulta de síndromes mielodisplásicos).

En la **figura 12** se representan las estimaciones de Kaplan-Meier de la función de supervivencia de los grupos SMD con mutación en SF3B1 (SMD-SF3B1<sup>mut</sup>) y SMD sin mutación en SF3B1 (SMD-SF3B1<sup>wt</sup>).



Se observa con una mediana de seguimiento de 44 meses (IC 95%: 36-51 meses), que la mediana de supervivencia global (SG) del grupo SMD-SF3B1<sup>mut</sup> fue de 119 meses (IC 95%: 85-152 meses) frente a 35 meses (IC 95%: 21-48 meses) en el grupo control de pacientes con SMD de bajo riesgo SF3B1<sup>wt</sup>, **p-valor < 0.001**.

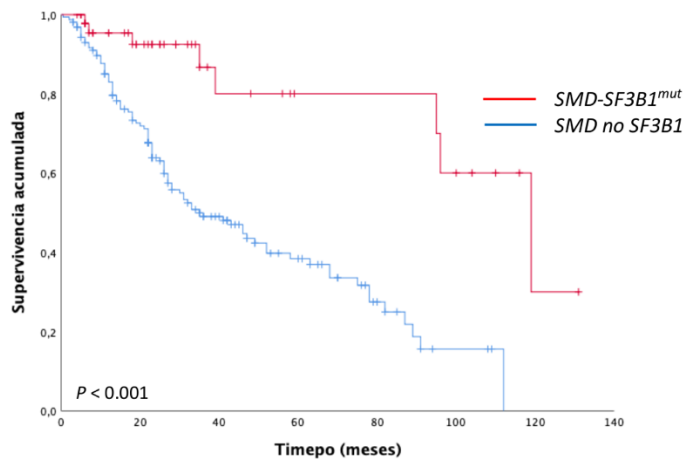


Figura 12. Supervivencia global SMD-SF3B1<sup>mut</sup> vs SMD-SF3B<sup>wt</sup>.

Análisis de supervivencia según la presencia o ausencia de la proteína K700E en los pacientes con SMD y mutación en SF3B1

Igualmente, en este apartado hemos utilizado el método log-rank. Hemos comparado la función de supervivencia en los pacientes con síndrome mielodisplásico con mutación en SF3B1 y expresión de la proteína K700E frente a otro grupo de pacientes con mutación en SF3B1 sin expresión de la proteína K700E.

En la **figura 13** se presentan las estimaciones de Kaplan-Meier de la función de supervivencia de los grupos SMD con mutación en SF3B1 y expresión de la proteína K700E (SMD-SF3B1<sup>mut</sup>, K700E) y SMD con mutación en SF3B1 y ausencia de expresión de la proteína K700E (SMD-SF3B1<sup>mut</sup>, no K700E).

Observamos que los pacientes que han expresado la proteína K700E no han alcanzado aun la mediana de supervivencia frente a los pacientes con SMD sin la expresión de la proteína K700E, donde la mediana de supervivencia ha sido de 96 meses (IC 95%: 67-124 meses), siendo estas diferencias significativas, **p valor = 0.054**.

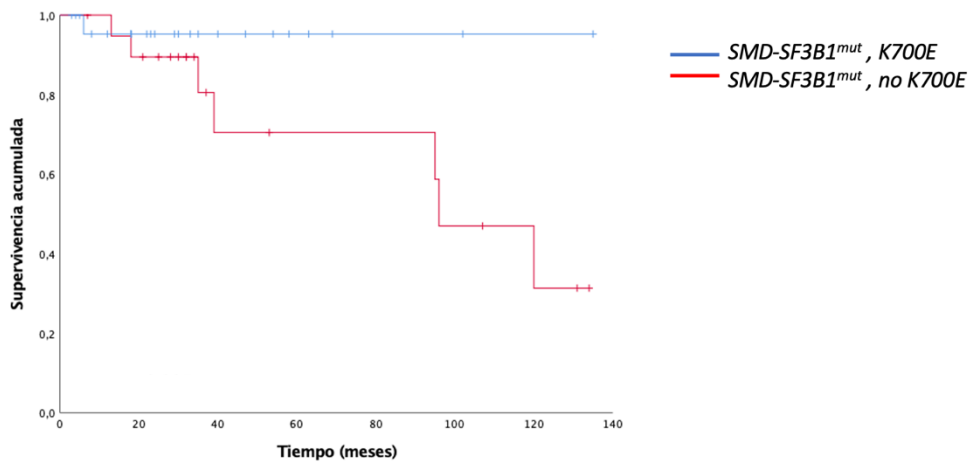


Figura 13. Análisis de supervivencia SF3B1<sup>mut</sup> K700E vs no K700E.

## DISCUSIÓN

El diagnóstico de los pacientes con SMD es complejo debido a su amplia heterogeneidad clínica. El diagnóstico molecular y las técnicas de secuenciación masiva (12) asociadas al estudio citomorfológico y citogenético han contribuido a clasificar y estratificar de una manera más adecuada a estos pacientes.

El hallazgo fundamental de este estudio es evaluar si la presencia de la mutación en *SF3B1* tiene un impacto favorable en supervivencia global. La mutación en *SF3B1* se relaciona con la presencia de sideroblastos en anillos, y además los pacientes que la presentan tienen cifras superiores de plaquetas y neutrófilos y menor porcentaje de blastos en médula ósea, siendo dichas características signos de buen pronóstico (13), (14). También, esta mutación reduce el riesgo de progresión a leucemia mieloide aguda (13) y el riesgo de muerte.

Este hecho ha dado pie a que en las nuevas clasificaciones de las neoplasias mieloides de 2022 de la OMS (8) y la de la ICC (9) la presencia de la mutación en *SF3B1* defina a un grupo de pacientes con síndromes mielodisplásicos.

En el análisis descriptivo, se puede apreciar que los pacientes diagnosticados de SMD con mutación en *SF3B1* presentaron al diagnóstico una cifra de hemoglobina, plaquetas y neutrófilos cercanas a la normalidad, un bajo recuento de blastos y un cariotipo normal, todo ello siendo características de buen pronóstico.

En el análisis de supervivencia realizado con el estimador de Kaplan-Meier, inicialmente observamos que los pacientes con SMD y mutación en *SF3B1* han presentado una mediana de supervivencia elevada (**figura 11**), posteriormente al comparar la función de supervivencia de dos grupos

distintos mediante el estadístico log-rank (**figura 12**), se observa que los pacientes con SMD y mutación en SF3B1 han presentado una mediana de supervivencia global superior que el grupo de pacientes con SMD de bajo riesgo sin dicha mutación (mediana de supervivencia de 119 vs. 35 meses,  $p$  valor  $< 0,001$ ).

A raíz de la aplicación del IPSS-M (12), y del análisis por conglomerados realizado por el *International Working Group for the Prognosis of MDS* (IWG-PM), que clasifica a los pacientes con mutación en SF3B1 en tres subgrupos, se demostró que el pronóstico favorable era para aquellos pacientes clasificados en el grupo de SF3B1<sup>α</sup>. En nuestro estudio, de entre los 46 pacientes con SF3B1, 38 formaban parte del subgrupo SF3B1<sup>α</sup>, 5 del subgrupo SF3B1<sup>5q</sup> y 3 del subgrupo SF3B1<sup>b</sup>.

Un aspecto para criticar es que este hallazgo tan relevante como es la subdivisión de los pacientes con SF3B1 en 3 diferentes subgrupos, no está contemplado en la clasificación del IPSS-M (12), pudiendo entonces sobrestimar el pronóstico favorable de los pacientes con mutación en SF3B1.

Pero la característica que le otorga un mejor pronóstico a los pacientes con SMD y mutación en SF3B1 es la expresión de la proteína K700E, la cual está expresada con mayor frecuencia en los pacientes pertenecientes al subgrupo SF3B1<sup>α</sup>. De nuestros pacientes, la proteína K700E estaba presente en 21 pacientes del subgrupo SF3B1<sup>α</sup> frente a 3 pacientes entre los otros 2 subgrupos (**tabla 9**), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa ( $p$  valor= 0.2537), probablemente por falta de potencia debido a un tamaño muestral pequeño.

Estos hallazgos han sido comparados con el trabajo realizado por el MD Anderson Cancer Center (15), donde demuestran que la presencia de la mutación K700E confiere resultados favorables a estos pacientes.

En el análisis de supervivencia realizado (**figura 13**), los pacientes que expresaban la proteína K700E no habían alcanzado la mediana de seguimiento frente a los pacientes sin la expresión de la proteína K700E que, si la habían alcanzado, siendo esta de 96 meses, aunque estas diferencias no fueron significativas ( $p$  valor = 0.054), igualmente por un tamaño muestral pequeño, aunque en este caso el  $p$  valor es bastante pequeño, cercano a la significación estadística.

La mayoría de los pacientes con síndrome mielodisplásico de bajo grado fallecen por causas distintas al desarrollo de leucemia mieloide aguda. De nuestras pacientes, solo progresaron a LMA 5 pacientes, además estos 5 pacientes pertenecían al grupo que no expresó la proteína K700E, mientras que ninguno de los pacientes con expresión de la proteína K700E progresó a LMA ( $p$  valor = 0.01), (**tabla 10**).

Con este estudio pretendemos confirmar la importancia del diagnóstico molecular en la clasificación de los pacientes con SMD. Nuestro estudio demuestra que la mutación en *SF3B1* otorga un pronóstico favorable en términos de supervivencia global y que los pacientes que la presentan tienen un menor riesgo de progresión a leucemia mieloide aguda, concretamente aquellos pacientes que pertenecen al subgrupo *SF3B1* <sup>$\alpha$</sup>  y expresan la proteína K700E.

Aunque somos conscientes de que algunos de los resultados obtenidos no son estadísticamente significativos debido a un tamaño muestral pequeño, estos indican que realizar futuros estudios con un tamaño muestral superior podrían proporcionar resultados prometedores. Hay varias líneas de investigación en este sentido, hoy en día se está presentando especial interés al diagnóstico molecular para intentar conseguir dianas diagnósticas y terapéuticas más específicas.

## CONCLUSIONES

- El grupo de los pacientes con *SF3B1* mutado es heterogéneo desde el punto de vista clínico. A pesar del buen pronóstico que se le atribuye según los modelos pronósticos actuales, este pronóstico favorable depende del tipo de mutación generada, los pacientes que presentan el hotspot K700E tienen resultados favorables tanto en supervivencia global como en riesgo de progresión a LMA.
- Es necesario la realización de estudios con un tamaño muestral superior para poder corroborar estos resultados.

## CRONOGRAMA Y PLAN DE TRABAJO

El plan de trabajo consta de 5 fases, las cuales se muestran a continuación:

- Fase 1: 2 meses (enero y febrero de 2022):
  - Elaboración de la base de datos incluyendo a los pacientes diagnosticados de SMD con mutación en SF3B1 desde 2011 hasta enero de 2023.
  - Informe detallado a los pacientes del fin de la investigación. Informe y proporción del consentimiento informado.
  - Búsqueda de información y revisión bibliográfica.
- Fase 2: 1 mes (marzo de 2023):
  - Búsqueda de información y revisión bibliográfica.
- Fase 3: 3 meses (abril, mayo y junio de 2023)
  - Procesamiento, transcripción y estudio cuantitativo (estudio descriptivo y análisis de supervivencia) de los datos.
  - Redacción del estudio.
- Fase 4: 1 mes (julio de 2023):
  - Presentación ante el tribunal evaluador de Trabajos de Fin de Máster del Máster en Asistencia e Investigación Sanitaria.
- Fase 5: 5 meses (agosto, septiembre, octubre, noviembre y diciembre de 2023):
  - Presentación del trabajo en sesiones clínicas del servicio de hematología.
  - Traducción al inglés.
  - Difusión del estudio en congresos, conferencias científicas y publicación en revistas científicas.

## PLAN DE DIFUSIÓN DE LOS RESULTADOS

### Colectivos de interés

Los resultados obtenidos, serán de interés fundamentalmente para profesionales sanitarios implicados en las especialidades de hematología y hemoterapia y medicina interna.

El colectivo médico de hematología es el encargado del diagnóstico, seguimiento y tratamiento de los pacientes con SMD. Es necesario realizar una mención especial a los profesionales dedicados a la rama de biología molecular, donde se realizar los estudios e informes sobre las mutaciones presentes en esta enfermedad.

#### ➤ Revistas

##### 1. Nacionales

<b>Sangre</b>	Entidad	<b>Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia</b>
	Bases de Datos	<b>Medline</b>
	Open Access	<b>Si</b>
<b>Revista Clínica Española</b>	Entidad	<b>Publicación Oficial de la Sociedad Española de Medicina Interna.</b>
	Bases de Datos	<b>Clinical Medicine, JCR/SCI-Expanden, Index Medicus/Medline y Excerpta Medica/EMBASE.</b>
	Open Access	<b>No, bajo suscripción</b>



## 2. Internacionales

<b>Transfusion</b>	Entidad	<b>International Journal of Blood Transfusion and Immunohematology</b>
	Bases de Datos	<b>Medline</b>
	Open Access	<b>Si</b>
	Factor de impacto	<b>3.33</b>
<b>American Journal of Hematology</b>	Entidad	<b>Wiley, Universidad de Harvard</b>
	Bases de Datos	<b>Medline, EMBASE, SCOPUS, Hospital Premium Collection</b>
	Open Acces	<b>Si</b>
	Factor de impacto	<b>13.26</b>

### ➤ **Congresos**

- LXV Congreso Nacional SEHHXXXIX Congreso Nacional SETHIII Congreso Iberoamericano de Hematología. Organizado en Sevilla, con fecha del 6 al 28 octubre de 2022. Coste: 675 euros (socios) y 775 euros (no socios).
- 65th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition 2023 (ASH 2023). Organizado en San Diego entre el 10 y 13 de diciembre de 2023. Coste: 700 \$ (socios) y 1300 \$ (no socios).

## ANEXO: ILUSTRACIONES, FIGURAS Y TABLAS

### FIGURAS

Figura 1. Sideroblastos en anillo. Imagen obtenida del atlas del Grupo Español de Citología....	16
Figura 2. Supervivencia sin progresión a LMA, supervivencia global y probabilidad de transformación leucémica según la categoría del SF3B1.....	17
Figura 3. Histograma variable edad al diagnóstico .....	28
Figura 4. Histograma variable blastos al diagnóstico .....	29
Figura 5. Histograma variable hemoglobina al diagnóstico.....	29
Figura 6. Histograma variable plaquetas al diagnóstico.....	30
Figura 7. Histograma variable cifra de neutrófilos al diagnóstico.....	30
Figura 8. Gráfico de barras de la variable sexo .....	31
Figura 9. Gráfico de sectores de los distintos grupos de riesgo según la clasificación del IPSS-R33	
Figura 10. Mutaciones por NGS.....	34
Figura 11. Supervivencia global SMD-SF3B1 <sup>mut</sup> .....	40
Figura 12. Supervivencia global SMD-SF3B1 <sup>mut</sup> vs SMD-SF3B <sup>wt</sup> .....	41
Figura 13. Análisis de supervivencia SF3B1 <sup>mut</sup> K700E vs no K700E.....	42

### TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los SMD según la OMS 2022.....	12
Tabla 2. Clasificación de los SMD según la ICC 2022. ....	14
Tabla 3. Neoplasias mieloides con mutación en TP53.....	14
Tabla 4. Variables cuantitativas relacionadas con el diagnóstico de SMD .....	27
Tabla 5. Variables cualitativas relacionadas con el diagnóstico de SMD .....	31
Tabla 6. Clasificación pronóstica. ....	32
Tabla 7. Distribución de la proteína K700E según los grupos de riesgo establecidos en el IPSS-R. ....	35
Tabla 8. Distribución de la proteína K700E según los grupos de riesgo establecidos en el IPSS-M. ....	36
Tabla 9. Distribución de la proteína K700E en los subgrupos de SF3B1 según la clasificación IWG-PM.....	38
Tabla 10. Riesgo de progresión a LMA según la presencia de K700.....	39

## BIBLIOGRAFÍA

1. Tefferi A, Vardiman JW. Myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2009 Nov 5;361(19):1872-85. doi: 10.1056/NEJMra0902908. PMID: 19890130.
2. Hasserjian RP. Myelodysplastic Syndrome Updated. *Pathobiology*. 2019;86(1):7-13. doi: 10.1159/000489702. Epub 2018 Jul 24. PMID: 30041243.
3. Brunning RD, et al. Myelodysplastic syndromes/neoplasms; in Swerdlow SH, et al. (eds): *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 2008, pp 88–93.
4. Arber DA, et al. The 2016 revision to the World Health Organization Classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127:2391–2405.
5. Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul;36(7):1703-1719. doi: 10.1038/s41375-022-01613-1. Epub 2022 Jun 22. PMID: 35732831; PMCID: PMC9252913.
6. Sanz GF, Ibañez M, Such E, et al. Do next-generation sequencing results drive diagnostic and therapeutic decisions in MDS? *Blood Adv*. 2019 Nov 12;3(21):3454-3460. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000680. PMID: 31714959; PMCID: PMC6855105.
7. Bejar R, Stevenson K, Abdel-Wahab O, et al. Clinical effect of point mutations in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med*. 2011;364(26):2496-2506.
8. Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia*. 2022 Jul; 36(7):1703-1719. doi: 10.1038/s41375-022-01613-1. Epub 2022 Jun 22.
9. Daniel A. Arber, Attilio Orazi, et al. International Consensus Classification of Myeloid Neoplasms and Acute Leukemias: integrating morphologic, clinical, and genomic data. *Blood* 2022; 140 (11): 1200–1228. doi: <https://doi.org/10.1182/blood.2022015850>.
10. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;89:2079–2088.

11. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;120:2454–2465. DOI: 10.1182/blood-2012-03-420489.
12. Bernard, E., Tuechler, H, et al. Molecular International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *NEJM Evid.* 2022, 1. DOI: 10.1056/EVIDoa2200008.
13. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boultonwood J, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med.* 2011;365(15):1384–1395.
14. Malcovati L, Karimi M, Papaemmanuil E, et al. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood.* 2015;126:233-241.
15. Kanagal-Shamanna R, Montalban-Bravo G, et al. Only SF3B1 mutation involving K700E independently predicts overall survival in myelodysplastic syndromes. *Cancer.* 2021 Oct 1;127(19):3552-3565. doi: 10.1002/cncr.33745.
16. Papaemmanuil E, Gerstung M, Malcovati L, et al. Clinical and biological implications of driver mutations in myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2013;122:3616-3627.
17. Chen J, Kao YR, Sun D, et al. Myelodysplastic syndrome progression to acute myeloid leukemia at the stem cell level. *Nat Med.* 2019;25:103-110.
18. Obeng EA, Chappell RJ, Seiler M, et al. Physiologic expression of Sf3b1K700E causes impaired erythropoiesis, aberrant splicing, and sensitivity to therapeutic spliceosome modulation. *Cancer Cell.* 2016;30:404-417.